

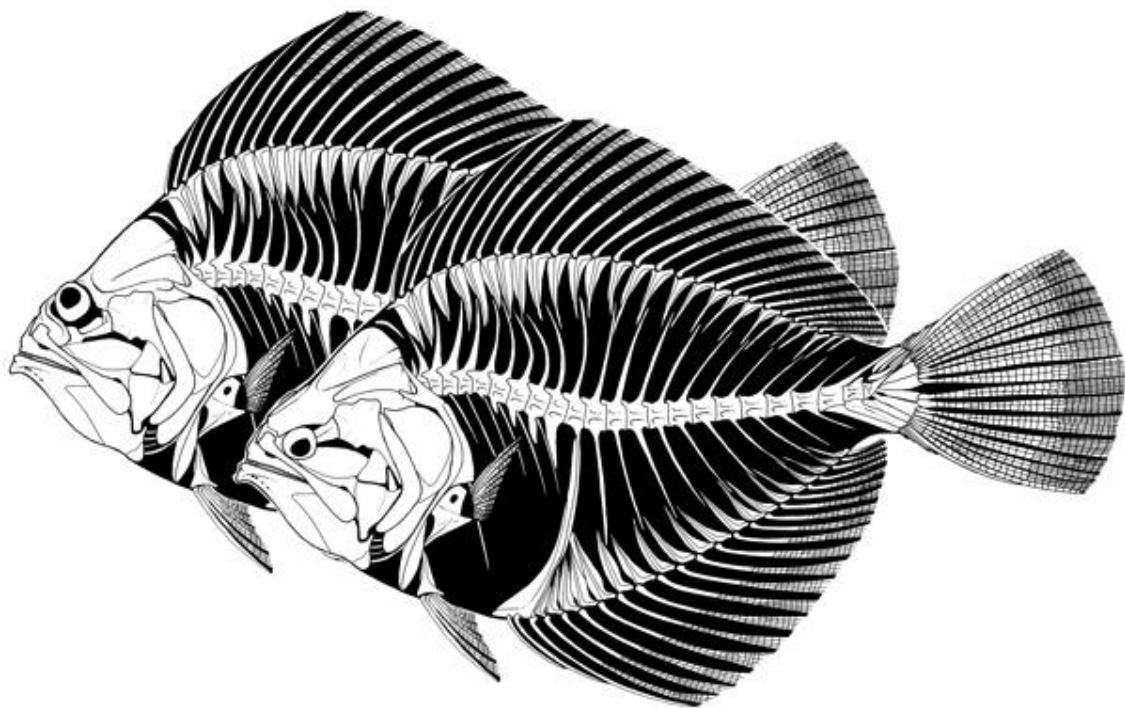
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кафедра гідробіології

ВОДНА ТОКСИКОЛОГІЯ

МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК
для самостійної роботи студентів заочної форми навчання

ЧАСТИНА 2. ІХТІОТОКСИКОЛОГІЯ



для бакалаврів за напрямом підготовки
6.090201 – «Водні біоресурси та аквакультура»

Київ – 2014

УДК 574.64 : 597.2/5

Викладено методичні матеріали для самостійної роботи студентів заочного відділення рибогосподарського факультету, які навчаються за напрямом підготовки 6.090201 – «Водні біоресурси та аквакультура» з курсу «Водна токсикологія», наведено теми індивідуальних завдань і зразки тестових запитань для контролю рівня студентських знань

Рекомендовано до видання вченою радою ННІ тваринництва та водних біоресурсів НУБіП України, протокол № 4 від 24.11.2014

Укладач: доцент кафедри гідробіології,
кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник
Дудник Світлана Василівна

Рецензенти: доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України
Євтушенко Микола Юрійович
кандидат біологічних наук, доцент
Цедик Вікторія Валентинівна

Навчальне видання

ВОДНА ТОКСИКОЛОГІЯ

МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

для самостійної роботи студентів заочної форми навчання

ЧАСТИНА 2. ІХТІОТОКСИКОЛОГІЯ

**для бакалаврів за напрямом підготовки
6.090201 – «Водні біоресурси та аквакультура»**

Укладач: Дудник С.В.

Відповідальний за випуск С.В.Дудник
Комп'ютерна верстка І.В.Соломаха

Видавництво Українського фітосоціологічного центру
тел./факс (044) 524-11-61

Підписано до друку 04.12.2014. Формат 60 X 84, 1/16.

Друк різнографічний. Папір офсетний. Гарнітура Ariel.

Ум. друк. арк. 7. Тираж 50 пр. Зам №94-2.

Надруковано у друкарні Українського фітосоціологічного центру

ЗМІСТ

ВСТУП	4
ТЕМА 1. Поняття «норми» і «патології» в іхтіотоксикології	7
ТЕМА 2. Основи токсикодинаміки в іхтіотоксикології	14
ТЕМА 3. Основи токсикокінетики в іхтіотоксикології	29
ТЕМА 4. Біологічні аспекти іхтіотоксикології	41
ТЕМА 5. Фізіологічні аспекти іхтіотоксикології	52
ТЕМА 6. Біохімічні аспекти іхтіотоксикології	66
ТЕМА 7. Діагностика отруєння риб	85
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ І РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	94
ПРИКЛАДИ ТЕСТОВИХ ЗАВДАНЬ	101

ВСТУП

Іхтіотоксикологія – це вузький науковий напрямок у водній екотоксикології, який досліджує вплив токсичних речовин на організми риб та процеси їхньої життєдіяльності. Предметом її дослідження виступають морфологічні, функціональні, фізіологічні, біохімічні, генетичні і т.д. зміни, що відбуваються у клітинах, тканинах, органах та системах органів у риб у забрудненому токсикантами водному середовищі.

В завдання іхтіотоксикології входить висвітлення теоретичних аспектів виникнення патологічних станів у різних видів риб під впливом отруйних речовин та розробка методологічних підходів щодо вирішення проблеми упередження забруднень рибогосподарських водойм і зниження ризиків недоотримання запланованих обсягів високоякісної рибної продукції.

Токсикологічні дослідження на водоймах різних типів нині мають беззаперечну актуальність, оскільки основною проблемою рибного господарства є дія антропогенних факторів, і в першу чергу, такої їх складової як забруднення середовища існування риб. Сучасний рівень забруднення поверхневих вод визначається цілим комплексом антропогенних впливів, які змінюють якість води, склад донних відкладів і перебіг біологічних процесів у водному середовищі.

Дія токсикантів на іхтіофауну водойм відбувається за рахунок декількох основних процесів: 1) біофільтрації; 2) біосорбції на поверхні тіла; 3) осмотичного проникнення у тканини організму; 4) біоаккумуляції; 5) біомагніфікації, тобто передачі токсичних речовин трофічними ланцюгами з наступним накопиченням їх у вищих ланках, особливо у хижих і бентосоїдних рибах. Всі ці процеси призводять до прогресуючої інтоксикації риб, їхніх

захворювань та загибелі. Зростання рівня акумуляції токсикантів в організмах риби у часі є фактором, який наближує екологічні катастрофи і спричиняє спершу непридатність риби і рибопродуктів для харчових і кормових цілей внаслідок перевищення санітарно-гігієнічних нормативів, а потім – масову загибель риби від кумулятивних токсикозів. Порушується і відтворювальна функція іхтіофауни за рахунок депонування токсикантів у гонадах риби та руйнування всього їх генофонду.

Загибель риби у забрудненій річці – грізна ознака прогресуючого отруєння водойми, в якій порушується біологічна рівновага, а разом з цим знижується й інтенсивність самоочищення, яке тісно пов'язане з життєдіяльністю одноклітинних організмів – бактерій, водоростей і найпростіших. Після цього річка може перетворитися на стічну каналу, вода якої непридатна не тільки для пиття, життя і зрошення, а й для технічних потреб.

Риби у багатьох випадках виступають завершальною ланкою трофічних ланцюгів водойм і, як організми, що мають досить тривалий життєвий цикл, з часом можуть накопичувати патологічну інформацію, яку можна реєструвати візуально і за допомогою точних методів дослідження. Це, в свою чергу, дозволяє розробляти методичні підходи до вирішення завдань щодо нормування скидання у водойми стічних вод та встановлення ГДК для різних класів токсичних сполук.

Все більш зростаючі з кожним днем масштаби забруднення континентальних водойм і вод Світового океану солями важких металів, нафтою і нафтопродуктами, пестицидами, поверхнево-активними речовинами (ПАВ), промисловими матеріалами та побічними продуктами хімічного синтезу ставлять науковців перед необхідністю прискореного пошуку науково обґрунтованих гранично допустимих концентрацій шкідливих речовин для

розробки практичних рекомендацій з усунення забруднень. В основі цих розробок має лежати уніфіковане поняття критеріїв токсичності різних речовин для риб й інших гідробіонтів, використання однакових методів визначення токсичності реагентів, постановка дослідів за єдиною схемою. Щоб досягти цього, необхідно враховувати загальні закономірності і механізми дії різних груп токсичних речовин на гідробіонтів і, зокрема, на риб.

Іншим важливим завданням іхтіотоксикології є діагностування захворювання риб та встановлення причин їхньої загибелі. Іхтіотоксикологічні дослідження виступають важливою складовою екологічної експертизи стану природних і штучних водойм та розглядаються як основна підстава для стягнення відшкодування за заподіяну водоймам шкоду у результаті їхнього забруднення, засмічення або вичерпання водних запасів.

Все це обумовлює важливість даного наукового напрямку для фахової підготовки спеціалістів в галузі водних біоресурсів та аквакультури.

ТЕМА 1. Поняття «норми» і «патології» в іхтіотоксикології

Основним завданням іхтіотоксикології, як відмічалось вище, є встановлення максимальної недіючої, тобто гранично допустимої, і мінімальної діючої, тобто порогової концентрацій токсичних речовин для використання цих параметрів з метою нормування скидання стічних вод різних галузей господарства у водойми різних типів і призначення з метою уникнення небажаних чи екологічно небезпечних явищ.

Основним об'єктом, з яким працюють дослідники в галузі іхтіотоксикології, виступають окремі особини риб, оскільки вони є ідеальними тест-об'єктами, тобто організмами, що дозволяють детально вивчати відгуки біологічних систем на дію таких факторів як забруднення водного середовища, забезпечуючи можливість фіксувати зміни, що при цьому відбуваються. У якості тест-функцій для проведення досліджень можуть бути використанні різні біологічні, фізіологічні, біохімічні та інші показники, які розглядаються як критерії токсичності. Вони обираються, виходячи з природи токсичної речовини, її хімічної будови, властивостей, шляхів надходження в організм та механізму токсичної дії.

Проте риби є досить високоорганізованими біологічними системами, для яких властива саморегуляція і можливість компенсації негативного впливу факторів зовнішнього середовища, підтримання сталості внутрішнього середовища (гомеостаз). У зв'язку з цим, для оцінки токсичного впливу тієї чи іншої речовини на риб необхідно в'яснити, який їхній функціональний стан є нормальним для даного організму, а який – вже відбиває патологію, що розвивається за отруєння токсичними речовинами. Це питання досить складне і не вирішене до кінця навіть

нині, оскільки містить багато умовностей. Проблема «норми» і «патології» у водній токсикології і у її розділі, що стосується іхтіотоксикології, виступає як частина загальної проблеми взаємодії у системі людина-суспільство-природа. Основним у цій взаємодії є питання про життєзабезпечення людини та розвиток суспільства. Тому як «норма» трактується не тільки певний стан організму риб, а і позитивний результат для життєдіяльності та господарської діяльності людини.

Термін **«норма»** походить від латинського слова *norma* і у загальному розумінні означає **зразок, еталон, правило**.

Найбільш широко застосовується визначення норми як типового, масового, середнього явища, структурної стійкості системи. Це кількісні характеристики норми, які відображують стійкість якості, що визначається як така, яка найбільш часто зустрічається. У такому випадку достатньо за норму приймати середнє значення обраного показника плюс-мінус похибку досліду. При проведенні експериментальних досліджень для встановлення норми завжди використовують контроль (в іхтіотоксикології це варіант досліду зі стандартним розчином, у якості якого виступає дехлорована, ненасичена киснем водопровідна вода без додавання токсиканту). Контроль для прийняття його за норму повинен бути близьким до забезпечення типового середнього стану особин риб в заданих умовах.

В залежності від характеру обраного для дослідження критерію токсичності забрудників водного середовища розрізняють біологічну, фізіологічну, біохімічну норму.

«Норма» може бути визначена як співрозмірність внутрішнього і зовнішнього середовища, гармонічний перебіг процесів життєдіяльності, баланс народжуваності і смертності. Ці характеристики властиві для організму як єдиного цілого і для органі-

зму як складової частини біологічних систем вищого рангу, наприклад виду. Розбалансованість між складовими частинами організму викличе загибель особини, розбалансованість народжуваності і смертності викличе зникнення виду. Для характеристики «норми» використовують також такі поняття як оптимальний стан, максимальна продукція при мінімумі затрат. Оптимум означає найкраще із того, що може бути за даних умов. В інших умовах воно може бути не найкращим, у цьому випадку вказують зону допустимих змін для функціонування систем. Деякі вчені характеризують «норму» як адаптивну зону компенсаторних можливостей, зону реакцій генотипу і межі здатності пристосовуватися до нових умов середовища, не втрачаючи конкурентоздатності у боротьбі за виживання. Усі ці положення стосуються **біологічної норми**, поняття якої було введено М.С.Строгановим. Основним критерієм біологічної норми він вважав **забезпечення існування виду, його здатність до повноцінного відтворення**.

У процесі індивідуального розвитку водних організмів, зокрема риб, у них відбуваються зміни, які можна розділити на три групи:

- а) нормальні зміни, в межах яких організм здоровий і дає життєздатних нащадків;
- б) аномальні зміни – вроджені відхилення, які дозволяють пройти біологічний цикл; наявність нащадків означає, що стан організму залишається в межах норми; відсутність нащадків свідчить про патологію, яка не дозволяє вести повноцінне життя;
- в) патологічні порушення в процесі життєдіяльності, які розвиваючись викликають загибель організму.

Термін «**патологія**» походить від грецького слова *pathos* і означає **хворобу**.

З фізіологічної точки зору поняття «норма» і «патологія» отримують зміст лише у тому випадку, коли ми називаємо конкретні умови, даємо певну систему відліку, яка дозволить оцінювати зміни, що відбуваються під впливом токсикантів. При розгляді змін фізіологічних параметрів, які спостерігаються у токсичному середовищі, слід застосовувати кількісні, а не якісні критерії. Наприклад, К.Ф.Сорвачов вважає, що під фізіологічною патологією слід розуміти дезорганізацію ферментних систем і клітинних структур живих організмів. Дійсно втрата ензимами активності є свідченням розвитку патологічних процесів. Але інактивація ферментів протягом онтогенезу може бути свідченням переходу організму від однієї стадії розвитку в іншу. Для діагностики патологічних змін під впливом токсикантів необхідно врахувати попередні умови.

Для класифікації пошкоджень на клітинному рівні доцільно як класифікаційну ознаку брати принцип наслідків, які виникають під впливом токсикантів. Їх можна розділити на декілька груп: зміни первинної структури молекул ферментів; деформація білкових молекул і коферментів; внутрішньомолекулярна взаємодія функціональних груп макромолекул; нерегульована фрагментація макромолекул; зміна міжмолекулярних зв'язків при передачі генетичної інформації; порушення процесів надходження у клітини субстратів внаслідок зміни проникливості мембран або пригнічення трансмембранного переносу; утворення хімічних зв'язків між макромолекулами і токсикантами.

У процесі життєдіяльності в організмі риб відбувається ціла низка метаболічних процесів перетворення речовин зовнішнього середовища у необхідні структури внутрішнього середовища, у результаті чого токсичні речовини дезактивуються і виводяться назовні. Це нормальний процес. Патологією буде неспеци-

фічна зміна спрямування метаболічних процесів, у результаті чого метаболіти накопичуватимуться в тканинах і органах риб та викликатимуть відмирання (некрози) тканин і органів.

Патологією з фізіологічної точки зору є і втрата рибами здатності виявляти токсичні речовини в оточуючому середовищі за допомогою хеморецепторів та уникати забрудненого середовища. Така патологія реєструється при блокуванні токсикантами хеморецепторів.

Відхилення від норми фіксуються і у частоті дихальних рухів та у роботі системи кровотворення і кровообігу, гормональній активності і т.д. Для використання таких критеріїв токсичності забрудників водного середовища також необхідно встановлювати вихідні параметри в названих функціональних системах, які знаходяться у межах їхньої типової реакції на зміну параметрів середовища у зоні компенсаторних змін.

Таким чином, для встановлення фізіологічної норми і патології відправною точкою є встановлення механізмів гомеостазу.

Дуже чутливими критеріями токсичності отрут у водному середовищі для риб виступають біохімічні показники обміну речовин. **Біохімічні** дослідження норми і патології є основними відправними пунктами для вирішення цієї проблеми на всіх рівнях організації живої матерії, оскільки матеріальну основу всіх процесів життєдіяльності живих організмів, у тому числі і риб, складає обмін речовин. В основі як нормальних, так і патологічних явищ лежать одні і ті ж реакції, перебіг яких здійснюється зі специфічними закономірностями. Первинні порушення виникають на молекулярному рівні. Уявлення про те, що в основі нормального життя лежить складно організована узгоджена діяльність ферментативних систем, дозволяє передбачати, що патологію слід розглядати як прояви дезорганізації окремих ланок

цієї системи. Із всіх речовин, які регулюють обмін речовин, провідна роль належить білкам і нуклеїновим кислотам РНК і ДНК. Для реалізації регуляторного процесу необхідна енергія, яка постачається високоенергетичними фосфорними сполуками, перш за все АТФ. Наступним найбільш важливим регуляторним елементом є плазматична мембрана, функціонування якої забезпечує клітинний обмін речовин і енергії. На надклітинному рівні зовнішнє управління здійснюється за рахунок вмикання гормональних чи нейросекреторних механізмів.

Загально визнаним є положення, що у всіх живих істот перебіг основних біохімічних процесів відбувається однотипно, незважаючи на різноманітність субстратів, які приймають участь в обміні речовин, у тому числі і на наявність вузькоспецифічних для певного організму субстратів.

Знання основ загальної картини метаболізму того чи іншого виду і характеру вибіркової дії та властивостей токсичного агента допомагають спрогнозувати розвиток патологічних процесів. Порушення кожного із регуляторних елементів приводить до патології.

Біохімічні патології можна згрупувати наступним чином:

- 1) порушення генетичним апаратом процесу біосинтезу білка;
- 2) порушення, викликані токсичними речовинами абіотичного характеру:
 - а) вибіркоче пригнічення активності ферментів;
 - б) неспецифічне пригнічення синтезу білка;
 - в) специфічне пригнічення біосинтезу ферментів;
- 3) аліментарні (харчові) порушення:
 - а) дефіцит вітамінів-ферментів;
 - б) дефіцит білка;
 - в) дефіцит мікроелементів;

- г) розбалансування раціонів живлення за утримання риб на штучній годівлі;
- 4) порушення первинної нервової і гормональної регуляції ферментативних систем;
- 5) порушення внутрішньоклітинної організації ферментативних систем.

Для повноцінного встановлення норми і патології у токсикологічних дослідженнях з рибами варто використовувати набір показників, які будуть враховувати і біологічну, і фізіологічну, і біохімічну складові.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть, для чого при проведенні іхтіотоксикологічних досліджень необхідне встановлення «норми» і «патології»
2. Дайте визначення поняттю «норми» в іхтіотоксикології
3. Дайте визначення поняттю «патології» в іхтіотоксикології
4. Вкажіть, що розуміють під критерієм токсичності отрут
5. Розкрийте суть біологічної норми в іхтіотоксикології
6. Вкажіть, які критерії токсичності використовують при встановленні біологічної норми
7. Розкрийте суть фізіологічної норми в іхтіотоксикології
8. Вкажіть, які критерії токсичності використовують при встановленні фізіологічної норми
9. Розкрийте суть біохімічної норми в іхтіотоксикології
10. Вкажіть, які критерії токсичності використовують при встановленні біохімічної норми

ТЕМА 2. Основи токсикодинаміки в іхтіотоксикології

Токсикодинаміка – це розділ іхтіотоксикології, який досліджує закономірності розвитку і прояву інтоксикації у риб.

Стратегія виживання риб у токсичних розчинах, чи у забрудненому водному середовищі має два альтернативних шляхи:

- 1) уникнення або ухилення від змін умов існування;
- 2) пристосування до змінених умов середовища.

Оскільки риби мають досить високоорганізовану нервову систему, яка включає сенсорний відділ (зовнішні і внутрішні рецептори), нервові волокна для проведення імпульсів та аналізаторний відділ (головний мозок), вони здатні виявляти токсичні речовини у зовнішньому середовищі.

Виявлення токсикантів у водоймах рибами здійснюється за рахунок хімічного відчуття (хімічної рецепції). Хімічні подразнення сприймаються за допомогою нюху (відчуття запаху) або за допомогою органів ненюхової рецепції, яка забезпечує сприйняття смаку, зміни рН середовища і т.д.

Органи нюху риб (рис.1) знаходяться у передній частині голови і представлені парними нюховими капсулами, що відкриваються назовні отворами-ніздриями. Дно носової капсули вислане складками епітелію, який складається із сенсорних, опорних і базальних клітин. Зовнішня поверхня сенсорних клітин покрита війками, які сприймають хімічний сигнал, базальні клітини секретують слиз і беруть участь у передачі сигналу до опорних клітин, опорні клітини пов'язані із закінченнями нюхового нерва, сигнали від якого йдуть до нюхових доль, що прилягають до переднього мозку. Під впливом пахучих речовин у нюховому епітелії риб відбуваються складні процеси переміщення

ліпідів, білково-мукополісахаридних комплексів і кислих фосфатаз. Передній мозок виступає центром обробки інформації, яка надійшла від органів нюху і, завдяки своєму зв'язку з проміжним та середнім мозком, надалі бере участь у регуляції руху та поведінки риб як реакції-відповіді на дію токсичних речовин.

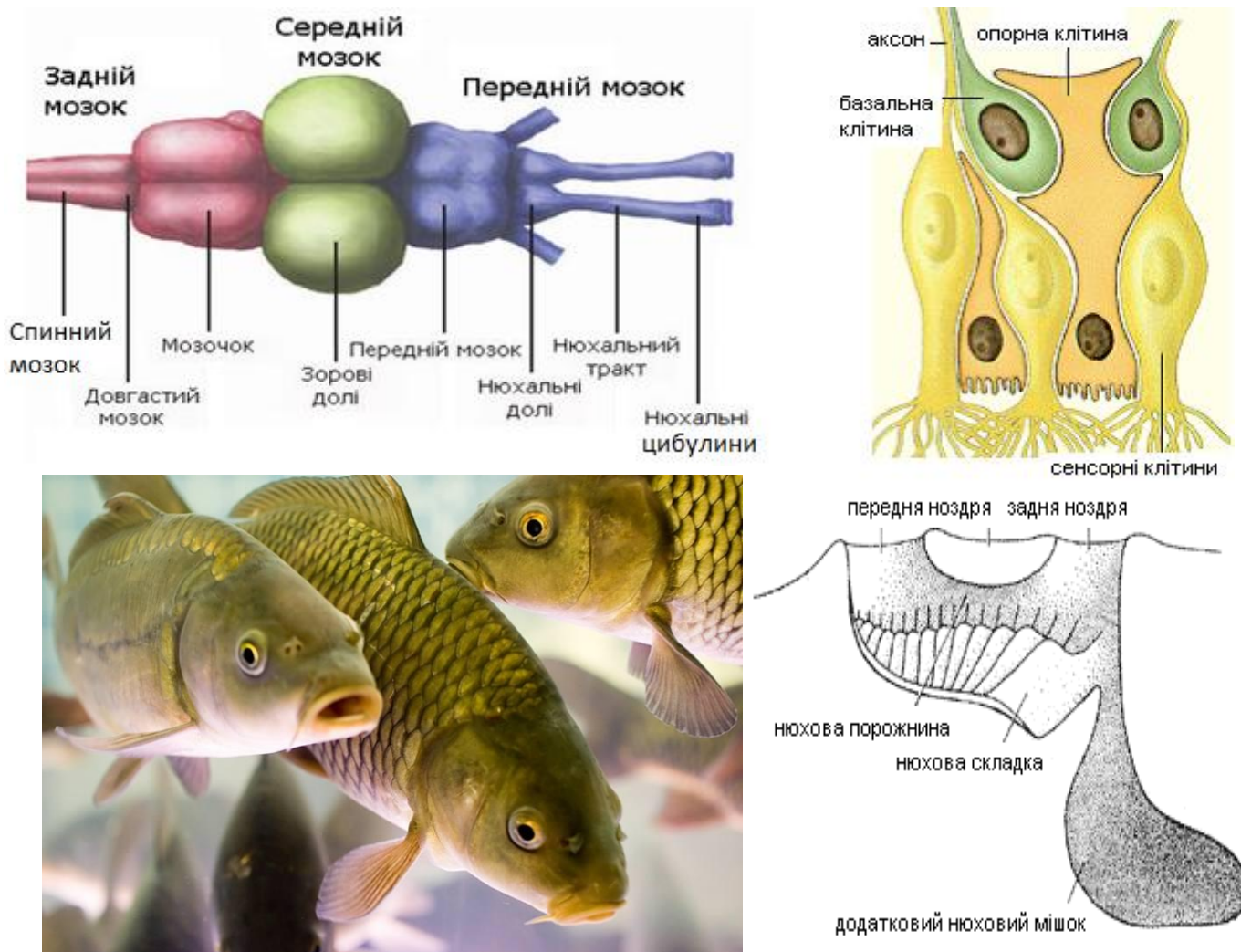


Рис.1. Нюхова рецепція у риб

Риби мають тонкий нюх, пороги нюхової чутливості у них дуже низькі (наприклад, феноли вони відчують вже за концентрації 0,01 мг/л). Крім того, вони здатні уловлювати запахи на великих відстанях, що дозволяє завчасно покинути небезпечні, забруднені токсикантами місця.

Органи смаку (рис. 2) у риб представлені смаковими цибулинами, які також утворені групами сенсорних і опорних клітин. Основа сенсорних клітин обплетена кінцевими розгалуженнями трійчастого, блукаючого, язиково-глоткового та спинномозкових нервів. У багатьох видів риб смакові цибулини розташовуються не тільки на голові в області рота, але і на вусиках, зябрах, променях плавців, по поверхні тіла аж до хвостового стебла, входять у склад органів чуття бічної лінії. У однієї і тієї ж особини кількість смакових цибулин не є постійною величиною. Вона зростає при збільшенні розмірів тіла. Щільність розташування смакових рецепторів залежить від видових особливостей риб та їхнього способу життя.

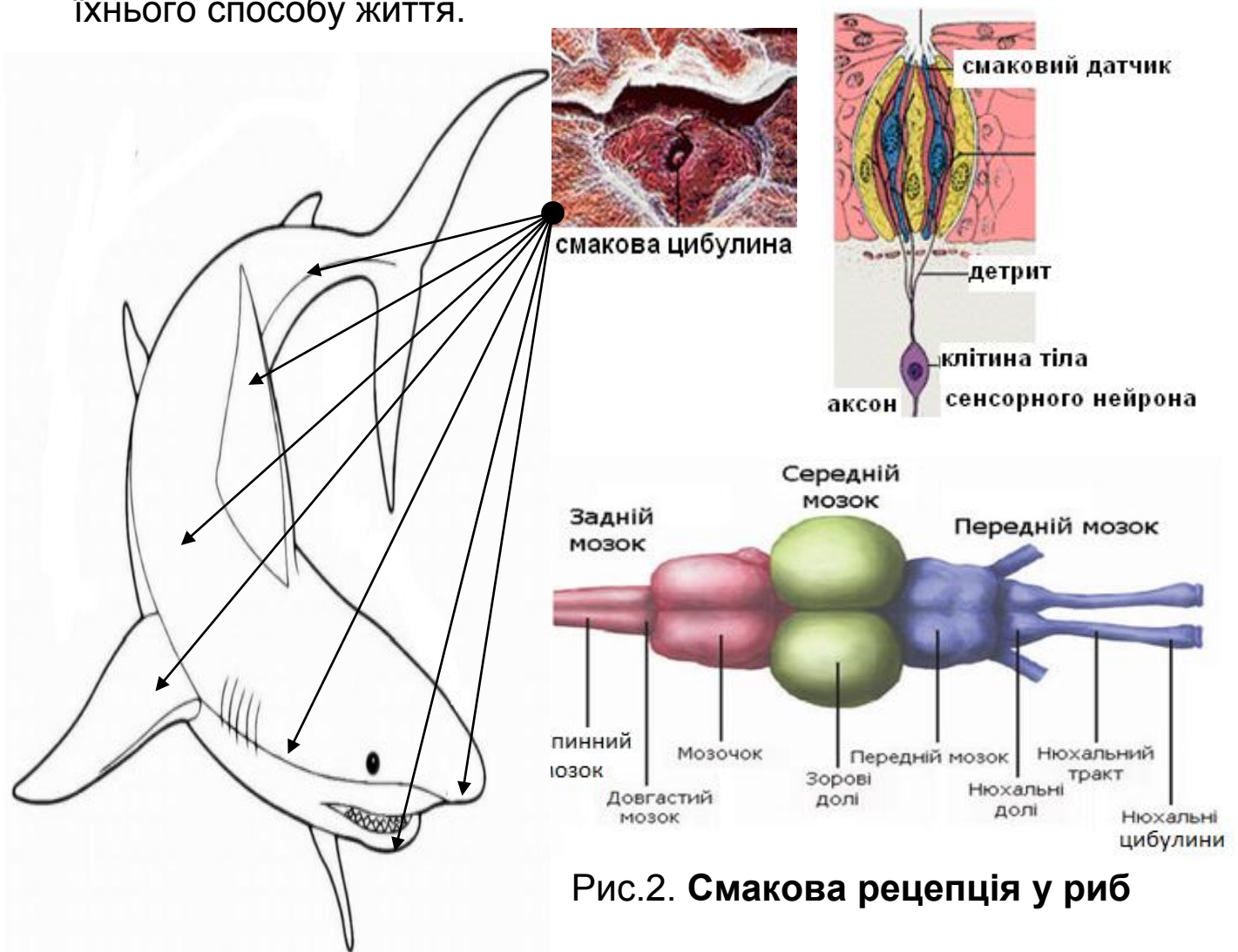


Рис.2. Смакова рецепція у риб

Сигнал від смакових рецепторів надходить до довгастого мозку, де розташовані найбільш важливі життєві центри, що регулюють діяльність дихальної, кровоносної, травної, видільної, скелетно-мускульної та ін. функціональних систем. Вони беруть участь у формуванні реакції-відповіді організму на дію токсичних речовин. Чутливість органів смаку у більшості видів риб дуже висока, наприклад, розчин глюкози вони сприймають у концентраціях 0,005%.

Миттєвою реакцією риб на наявність токсичних речовин у водному середовищі після їхнього виявлення є відхід у чисті зони, тобто уникнення або ухилення від дії отрут. Вираженість реакції уникнення залежить від сили дії реагента і пропорційна натуральному логарифму (\ln) концентрації токсичних речовин у воді:

$$U = \ln C$$

Крім того, вираженість реакції уникнення залежить від видових особливостей чутливості риб до дії отрут. У першу чергу у чисті зони водойми відходять високочутливі види – форель, плітка, йорж і т.д. Це призводить до збіднення видового складу і зменшення загальної чисельності риб порівняно зі станом цих показників до забруднення водойми. Забрудненні водойми заселяються високостійкими, як правило, непромисловими видами риб.

Досить часто у риб спостерігається відсутність реакції ухилення від дії отрут. Причиною цього є порушення адаптивної здатності ЦНС внаслідок надто тривалої дії низьких концентрацій токсичних речовин, особливо зі специфічним нейротропним ефектом, чи внаслідок залпового скидання висококонцентрованих стічних вод, або ж внаслідок скидання у водойми високотоксичних речовин локальної дії. Електрофізіологічними дослі-

дженнями встановлено, що навіть невисокі концентрації важких металів вже через декілька секунд блокують функції і ушкоджують зовнішні рецептори риб. Тимчасове або постійне блокування хеморецепторів підпороговими концентраціями різних речовин веде до розладу діяльності периферичних і центральних відділів хімічного аналізатора. Це позбавляє риб здатності виявляти, а отже, і своєчасно уникати токсичних речовин у забрудненій зоні водойми.

Поведінка риб у розчинах, які містять різні хімічні речовини, має суттєві особливості. Наприклад, розчини аміаку, фенолів і деяких інших отрут органічного походження мають збуджуючий вплив на риб, який супроводжується характерною бурхливою руховою активністю, у той час як солі важких металів, зокрема солі міді, діють на риб пригнічуючи.

Іншою стратегією виживання риб у забрудненому токсичними речовинами водному середовищі є пристосування, або адаптація до змінених умов. Ця стратегія розглядається багатьма науковцями як одна із фундаментальних властивостей живих систем, що проявляється на всіх рівнях їхньої організації: від субклітинного до популяційного.

Поняття адаптації широко використовується в екології та фізіології. В токсикології воно має свою специфіку та інтегральний зміст. З екологічної точки зору, адаптація – це морфофізіологічні зміни особин, які виникають у процесі їхньої взаємодії з факторами зовнішнього середовища. Фізіологічна трактовка змісту адаптації означає будь-яку зміну у функціональній організації або реакцію організму, яка сприяє його виживанню у даних умовах. Такі зміни, як правило, забезпечуються регуляцією внутрішнього середовища організму у відповідності до зов-

нішніх умов існування за рахунок компенсації ушкодження шляхом зміни проникливості мембран, інтенсивності метаболічних процесів, напрямків енергетичного обміну і т.д. У водній токсикології токсиканти в силу їхнього значного поширення нині розглядаються як екологічний фактор. Показником адаптації організму риб до дії такого екологічного фактору виступають пристосувальні фізіологічні зміни, тобто поняття адаптації у даному випадку об'єднує екологічну і фізіологічну складову. Специфікою ж адаптації організму до дії отрут у токсикології є її вираженість у часі. В.І. Лук'яненко **під адаптацією риб до дії отрут розуміє надбання їхнім організмом підвищеної (короткочасної або тривалої) резистентності у результаті попереднього контакту організму з токсикантом за рахунок ввімкнення компенсаторних механізмів.** У цьому визначенні він спирається на експериментальні дослідження Х.Денцера, які стосувалися встановлення закономірностей розвитку багатокomпонентної реакції риб на дію негативних факторів водного середовища. Оцінюючи токсичну дію низки хімічних речовин на риб за інтенсивністю споживання кисню, частотою і глибиною дихання, він приходить до висновку, що ці показники під впливом різних отрут змінюються точно так, як змінюється частота дихання райдужної форелі за впливу високих температур. Наприклад, за підвищення температури води від 0 до 10°C частота дихання форелі коливається у межах фізіологічної норми; за подальшого підвищення температури від 10 до 18°C, що складає фізіологічний оптимум для форелі, частота дихання закономірно підвищується спричинюючи посилення метаболічних та інших процесів життєдіяльності. Підвищення температури до 24°C, що вже виходить за межі фізіологічної норми для форелі, викликає збої у диханні, частота дихання то зростає, то падає, не забезпечу-

ючи нормального стану риби, далі відбувається розлад дихання і загибель риби. Виходячи з цього, Х.Денцер розглядає розвиток токсикозів у риб як складну багатокомпонентну реакцію риб на ушкоджуючий вплив отрут і виділяє в ній наступні чотири фази загального адаптаційного синдрому: **безкомпенсаційна фаза** і **фаза повної компенсації** представляють собою нормальні біологічні реакції на зміну умов оточуючого середовища, що не виходять за межі фізіологічної норми; **фаза неповної компенсації** відображує наявність тимчасових патологічних зсувів в організмі; далі настає **критична фаза**, яка характеризується незворотними патологічними процесами, розладом дихання і загибеллю риб (рис.3).



Рис.3. Загальний адаптаційний синдром у риб

У межах безкомпенсаційної фази і за повної компенсації ушкодження організму за рахунок включення різноманітних біохімічних та фізіологічних механізмів можлива адаптація риб до дії стрес-фактора, зокрема і токсичних речовин. Гідробіонти взагалі і риби зокрема характеризуються високою адаптаційною пластичністю. Вони здатні переносити значні коливання факторів і дозування життєво важливих елементів середовища. Пластичність гідробіонтів дозволяє їм витримувати і токсичні навантаження та адаптуватися до певних груп токсикантів. Але експериментальні дослідження стійкості риб до дії отрут показали, що в основі перебудови організму і мобілізації захисних механізмів, які визначають можливість адаптації риб до отрут лежить інтенсивність дії реагенту. У надбанні організмом резистентності до дії отрут велику роль грає і час його контакту з токсикантом. Співвідношення між часом контакту риб з отрутою і її концентрацією має таку закономірність – з підвищенням адаптогенної концентрації отрути зменшується час розвитку адаптації; із зростанням часу розвитку адаптації зменшується концентрація отрути, яка здатна викликати адаптаційну перебудову. Адаптогенною, як правило, є підпорогова концентрація токсичних речовин. При витримуванні особин у розчині з підпороговими концентраціями токсикантів у риб спостерігається активно викликаний адаптаційний ефект.

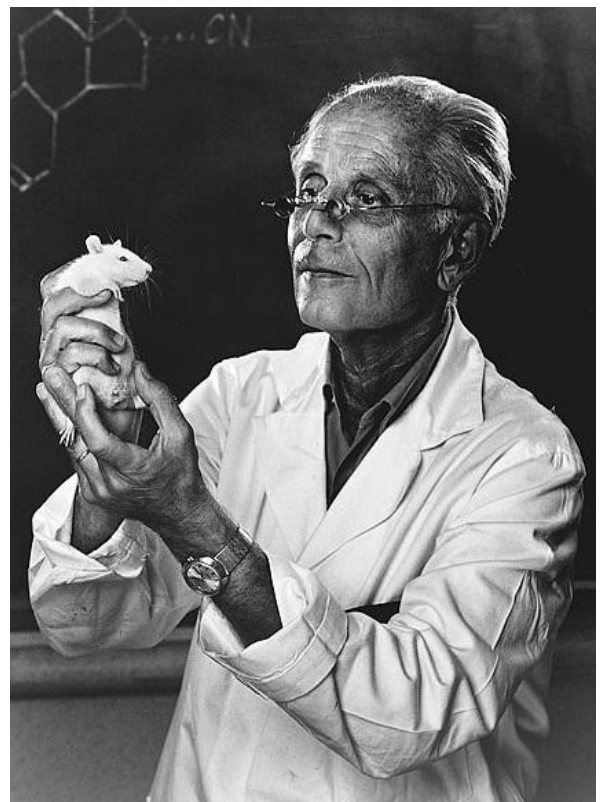
На основі експериментальних досліджень встановлено, що адаптація риб до отрут носить тимчасовий характер і є фазою резистентності у загальній реакції організму на стресуючу дію фактора хімічного походження. Ця фаза, яка характеризується тимчасовим підвищенням стійкості організму до дії токсиканту, змінюється виснаженням, що настає у результаті виходу з ладу компенсаторно-адаптаційних механізмів. Спостереження пока-

зують, що період відносного благополуччя, пов'язаний з можливим пристосуванням риб до дії отрут, змінюється наступним погіршенням їхнього фізіологічного стану, що в кінцевому результаті може привести до загибелі спочатку окремих особин, а з часом і всієї популяції того чи іншого виду у даній водоймі.

Теоретичною основою для розуміння загального адаптаційного синдрому у риб за дії на них токсичних забрудників водного середовища виступає теорія стресу Г.Сельє, яка розкриває динаміку резистентності живих організмів до впливу стресуючих факторів. Г.Сельє розглядає стрес або будь-яку патологію (у тому числі і викликану токсикантами) як порушення гомеостазу організму. Гомеостаз він розуміє як урівноважування функцій організму з коливаннями зовнішнього середовища, тобто як постійний безперервний обмін, спрямований на підтримання структури і функцій біологічної системи за постійних динамічних зовнішніх змін.

За теорією Г.Сельє стресовий стан живого організму виражається специфічним синдромом, обумовленим взаємодією реакцій ушкодження і захисту, який складається із всіх викликаних неспецифічних змін. Розвиток стресового стану характеризується наявністю трьох фаз (рис.4):

- 1) реакція тривоги являє собою комплекс реакцій, які розвиваються в неадаптованому організмі під впливом стресора і



Ганс Гуго Бруно Сельє,
канадський учений,
автор теорії стресу

сповіщає йому про необхідність вироблення резистентності (стійкості) відносно стресора;

- 2) фаза резистентності характеризується підвищеною стійкістю організму до дії стресорів і набуттям ним стану адаптації;
- 3) фаза виснаження змінює фазу резистентності за тривалої експозиції організму до дії стресорів.

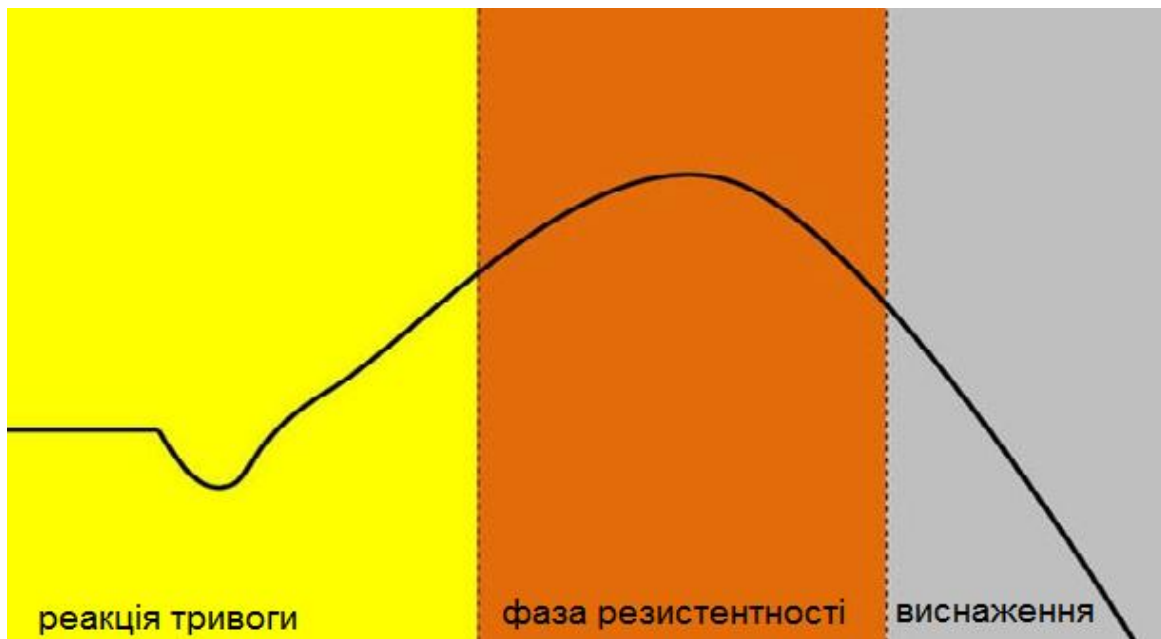


Рис.4. Розвиток стресового стану за теорією Г.Сельє

Фазовий перебіг токсичного процесу ґрунтується на порушенні нормального ходу фізіологічних реакцій і біохімічних процесів. Результатом цих змін є смерть піддослідних риб. Але фаза виснаження змінює фазу резистентності лише за умови тривалої дії токсичного агента. Якщо ж цю дію перервати, життєздатність риб відновлюється. Наслідки дії отрут у такому випадку визначаються хімічною природою токсикантів. Тимчасова адаптація риб до дії забруднювачів більш вірогідна у випадку їх контакту з речовинами органічного ряду. Оскільки вплив більшості з них реалізується через центральну нервову систему й ураження організму на перших етапах отруєння виражається у

функціональних зсувах, останні можуть бути зворотними і нейтралізуються компенсаторними реакціями організму. Адаптація ж риб до дії отрут неорганічної природи (кислоти і луги, важкі метали і т.д.), дія яких супроводжується локальними ураженнями, руйнуванням клітин, некрозами тканин і т.д., неможлива.

Цілісність організму риб, нормальний хід його життєдіяльності та збереження гомеостазу забезпечуються погодженою дією двох регуляторних систем: нервової і ендокринної. Першій належить вирішальна роль, оскільки вона контролює всі прояви життєдіяльності. Центральна нервова система здійснює чітке і високочутливе урівноважування організму з навколишнім середовищем. Будь-яке сильне місцеве подразнення викликає потік аферентної імпульсації по нервових волокнах. Наступною інтегральною ланкою у реалізації захисних і пристосувальних реакцій організму на стрес є гіпоталамо-гіпофізарна нейросекреторна система (ГГНС), яка трансформує нервові сигнали в гормональну активність шляхом синтезу нейрогормонів. ГГНС – найважливіший компонент регуляції, який запускає захисно-пристосувальний комплекс реакцій, або за теорією Г.Сельє, загальний адаптаційний синдром. У досліджах на гуппі було доказано, що під дією сублетальних і летальних концентрацій токсикантів спостерігається активація ГГНС, яка проявляється в інтенсивному синтезі нейросекреторної речовини (НСР) і транспортуванні її по аксонах в нейрогіпофіз. Перша фаза розвитку стресового стану у риб за отруєння токсичними речовинами (реакція тривоги) характеризується активним виведенням нейрогормонів у кров'яне русло внаслідок чого відбувається швидке зниження вмісту НСР у гіпоталамо-гіпофізарній системі. Друга фаза реакції гуппі на дію токсикантів (фаза адаптації) проявлялася накопиченням нейросекреторної речовини у всіх відді-

лах ГГНС. На заключній фазі розвитку токсичного процесу (фаза виснаження) вміст нейросекрету у ГГНС знову різко знижувався, клітини нейрогіпофізу спустошувалися, а нові порції нейросекрету не синтезувалися. Відповідні етапи морфо-функціонального стану гіпоталамо-гіпофізарної нейросекреторної системи у процесі розвитку отруєння риб В.Е. Матей позначив фазами функціональної активності, депонування і функціональної напруги. Вираженість кожної з трьох фаз і їх тривалість залежать від концентрації та хімічної будови токсичної речовини. Такі результати експериментальних досліджень підтверджують правомірність використання теорії стресу в іхтіотоксикології, оскільки реакція риб на дію токсикантів подібна з загальним адаптаційним синдромом Г.Сельє не лише фенотипічно, а і за механізмами реалізації. Фази зміни функціонального стану гіпоталамо-гіпофізарної нейросекреторної системи риб виступають найважливішим неспецифічним ланцюгом реакцій-відповідей на стресові впливи.

ГГНС забезпечує зв'язок центральної нервової системи з ендокринною. За умов стресу, викликаного різними групами токсикантів, відбувається активація гіпоталамусу. Нейросигнал (кортикотропінвивільняючий фактор) надходить до передньої долі гіпофізу і стимулює вивільнення адренкортикотропного гормону (АКТГ). АКТГ активізує синтез і викид у циркуляційне кров'яне русло кортикостероїдів (кортизону і кортизолу) із інтєрреналової залози риб. Ця залоза відповідає за обмін Са і Р і є гомологом наднирників ссавців, у хрящових риб вона розташована між нирками, у костистих – в головній нирці навколо кардинальних вен. Іншою важливою нейроендокринною реакцією риб на токсичний вплив є підвищення в крові рівня катехоламінів (адреналіну і норадреналіну), які синтезуються хромафінни-

ми клітинами, що знаходяться в області задніх кардинальних вен. Ці реакції вважаються первинними. Вслід за ними виникають фізіологічні і біохімічні зміни, які виступають вторинними ознаками отруєння: зниження кількості лейкоцитів у крові, підвищення частоти серцебиття та дихальних рухів, зниження запасів глікогену у печінці, підвищення рівня цукру та молочної кислоти у крові і т.д.

При вивченні перебігу токсичного процесу в організмі риб за впливу на нього отрут різного механізму дії експериментально була встановлена можливість зворотного ходу інтоксикацій, тобто можливість оберненості отруєння.

Під оберненістю отруєння розуміють повернення організму чи його функціональних систем у нормальний фізіологічний стан після патологічних розладів, викликаних дією токсичних речовин. Токсична дія отрут може бути оберненою у випадку припинення контакту риби з отрутою.

Ступінь оберненості інтоксикації визначається природою і хімічними властивостями отруйної речовини, її концентрацією, часом дії, ступенем і характером ураження організму, видовими особливостями піддослідних риб. Можливість обернення отруєння риб доведена для органічних токсикантів нервово-паралітичної дії. Оберненість отруєння у цьому випадку характеризується фазовим перебігом, як і сам розвиток токсичного процесу. Фази відновлення рефлекторної діяльності ЦНС слідує одна за одною у порядку, зворотному розвитку токсичного процесу – функції, які порушуються у першу чергу, відновлюються останніми (наприклад, карасі, отруєні фенолом, які втратили рефлекс рівноваги і знаходилися у боковому положенні, що супроводжувалося конвульсивними судомами, посту-

пово набувають здатності спочатку імпульсивного, а потім більш поступового переміщення в боковому положенні, надалі рефлекс рівноваги відновлюється повністю).

Початкові фази інтоксикації риб за дії на них нервово-паралітичних отрут є високо оберненими. Перша фаза – фаза тривоги – високо обернена у всіх випадках. Друга фаза – тимчасова втрата рівноваги – також високо обернена навіть для сильнотоксичних речовин. Оберненість третьої фази, яка характеризується втратою рівноваги, атаксією і конвульсивними судомами, – низька: можливі випадки повної оберненості за дії низьких концентрацій отрут, часткової оберненості без відновлення рефлексу рівноваги або ж повної необерненості отруєння з послідуною загибеллю риб у віддалені строки.

Механізм оберненості отруєння полягає у посиленому виведенні токсикантів з організму риб, що в часі співпадає з частковим або повним відновленням нормального фізіологічного стану функціональних систем.

Повне відновлення нормального функціонального стану отруєної риби у випадку припинення її контакту з отрутою настає через 30-45 діб після усунення контакту її з отрутою. Такий тривалий період відновлення нормального стану риб, які перенесли отруєння, пов'язаний із тривалим перебуванням в їх організмі залишкових кількостей інкорпорованих (зв'язаних) токсикантів. Крім того, виведення отрут із організму риб відбувається активно на початку інтоксикації, з часом цей процес уповільнюється. Коли швидкість виведення падає, частина токсичних речовин залишається в організмі і накопичується в неактивних тканинах – жировій, кістковій і т.і., що стає передумовою для розвитку у подальшому кумулятивних токсикозів.

Перебування риб у розчинах мінеральних кислот, лугів та солей важких металів, які мають локальну дію на тканини і органи риб приводить до формування незворотного токсичного процесу внаслідок пошкодження зябер та внутрішніх органів.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть, що розуміють під токсикодинамікою в іхтіотоксикології
2. Вкажіть, які існують стратегії існування для риб у забруднених токсичними речовинами водоймах
3. Вкажіть, яким чином риби здатні виявляти отрути у водному середовищі
4. Розкрийте суть хеморецепції у риб
5. Вкажіть, яке значення має хеморецепція для виживання риб у водоймах різних типів
6. Вкажіть, що розуміють під адаптацією риб до токсичних речовин
7. Розкрийте закономірності формування багатокomпонентної реакції-відповіді риб на дію токсичних речовин
8. Розкрийте значення теорії стресу Г.Сельє для розуміння багатокomпонентної реакції-відповіді риб на дію токсичних речовин
9. Розкрийте механізм регулювання формування реакції-відповіді риб на дію токсичних речовин
10. Вкажіть первинні і вторинні реакції риб на дію токсичних речовин у водному середовищі.
11. Розкрийте суть поняття оберненості отруєння риб
12. Вкажіть, коли можлива оберненість отруєння риб

ТЕМА 3. Основи токсикокінетики в іхтіотоксикології

Токсикокінетика – це розділ іхтіотоксикології, який досліджує кінетичні закономірності надходження, розподілу, трансформації і виведення токсичних речовин із організму риб.

Виділяють два основних шляхи надходження отрут різного походження в організм риб: 1) безпосередньо із води у процесі біосорбції через органи дихання і шкіряні покриви – парентеральний шлях; і 2) у складі їжі через травну систему – пероральне живлення. Окрім цих двох шляхів деякі дослідники розглядають ще один, незалежний шлях, пов'язаний з поглинанням неорганічних сполук, абсорбованих на частинках зависей. У цьому випадку токсичні речовини надходять до організму риб у результаті фільтраційних процесів через травний тракт, де відбувається їхня часткова утилізація за умови зміни активної реакції середовища і ферментативної активності клітин.

Переважають же процеси біосорбції.

На основі багаточисельних і тривалих досліджень щодо встановлення шляхів надходження токсичних речовин до організмів риб було розроблено і сформульовано теорію біосорбції для водних організмів, згідно якої поверхня тіла риб та інших гідробіонтів розглядається як тверда, завжди структурована, пориста поверхня, складена полімерними молекулами типу протеїдів і полісахаридів з досить розгалуженими ланцюгами, які містять достатньо великий набір різноманітних атомів (С, О, Н, N, S т.д.). Структуру поверхні ускладнюють луска, оболонки клітин, міжклітинний простір і т.д. Крім того, тіло риб покрите шаром слизу, який відіграє роль змазки і бере участь в осморегуляції та виділенні і також розглядається як високоякісний сорбент. Він на 85-90% складається із води, а інші його компоненти

– нуклеопротеїди (18 амінокислот), холестерин, ліпофосфати-ди, мінеральні солі, – поглинуті ним із води. Така поверхня характеризується високою активністю, виступає у ролі поверхні фази і має електричні потенціали: мембранний, абсорбційний і фазовий. За рахунок електричних потенціалів на поверхні тіла риби виникає вільна енергія, яка може бути перетворена, і як правило, перетворюється на роботу з концентрування розчинених у водному середовищі речовин. Це є самовільний процес, спрямований на зменшення вільної енергії фізичної системи і не потребує додаткових енергетичних затрат від біологічних об'єктів. Таким чином, незважаючи на те, що концентрації розчинених у водному середовищі речовин, як правило, невисокі і навіть дуже низькі, більшість з них здатні абсорбуватися на поверхні тіла гідробіонтів, у тому числі і риби, концентруючись там до значних величин без додаткових затрат енергії.

Гідробіонти, які рухаються у воді, завжди оточені підвищеними концентраціями органічних речовин і пониженими неорганічних, тому молекули води, які покривають (змочують) тіло риби, легше заміщуються органічними сполуками, аніж неорганічними.

Поверхневою абсорбцією діло ніколи, чи майже ніколи, не обмежується, а процес охоплює всю товщу живих організмів. Його можна розбити на 3 етапи: 1) абсорбція абсорбату поверхнею покривних тканин і зябер риби; 2) абсорбція абсорбату товщею покривів всього тіла риби завдяки наявності міжклітинного простору з наступною участю кровоносної системи; 3) взаємодія абсорбату з плазматичними мембранами живих клітин і проникнення всередину клітин.

У зв'язку з цим, накопичення токсичних речовин в організмах риби може тривати необмежено тривалий час.

Найбільш потужний потік токсичних речовин в організм риб іде через залозистий апарат зябер, який являє собою активний фільтраційний механізм. Через слизову оболонку зябрових пелюсток і відбувається проникнення в організм розчинених у воді мінеральних сполук. Свідченням цього є інтенсивне надходження і накопичення у їхніх тканинах різноманітних хімічних сполук, зокрема, важких металів. Основним місцем проходження токсичних речовин через залозистий апарат зябер виступають його хлоридні клітини. Хлоридні клітини мають апікальну мембрану, яка контактує з навколишнім середовищем, причому декілька (дві і більше) хлоридних клітин утворюють комплекси з вузловим сполученням, що створює додаткові шляхи обміну.

Деякі токсичні речовини, зокрема важкі метали, наприклад кадмій, потрапляють у клітини зябрового епітелію прісноводних риб через кальцієві канали у апікальній мембрані.

Другорядна роль у надходженні токсичних речовин з води в організм риб відводиться шкіряним покривам (так можуть проникати як катіони кальцію, магнію, заліза, цинку, кобальту, стронцію, так і аніони сірки, вуглецю, фосфору і т.д.).

Не можна недооцінювати і шлях надходження хімічних елементів в організм риб через шлунково-кишковий тракт. У ньому добре поглинаються залізо, кобальт, нікель та інші неорганічні і органічні токсиканти.

За парентерального надходження токсичних речовин до організмів риб вони відразу через залозистий апарат зябер потрапляють до загального кровотоку і разносяться кров'ю до різних тканин і органів, забезпечуючи швидку інтоксикацію всього організму. Пероральне ж надходження токсичних речовин передбачає їхню часткову детоксикацію у процесі травлення та

біохімічних перетворень, зокрема і у гепатоцитах печінки, що дещо уповільнює та знижує рівень інтоксикації.

До клітин тканин і органів риб токсичні речовини потрапляють різними способами: у результаті пасивної, полегшеної або активної дифузії, фагоцитозу чи піноцитозу.

Проведені глибокі фундаментальні дослідження метаболізму отрут в організмі риб показали, що основні етапи метаболічного шляху будь-якого хімічного елемента розігруються на рівні клітинної мембрани. Однією з основних функцій біологічних мембран є забезпечення вибіркової проникливості для різних речовин, у тому числі і для отрут.

Швидкість проникнення токсичних речовин крізь плазматичні мембрани описується рівнянням:

$$V = K \frac{S(C_1 - C_2)}{d}, \text{ де}$$

V – швидкість проникнення токсичної речовини крізь мембрану,

K – коефіцієнт дифузії,

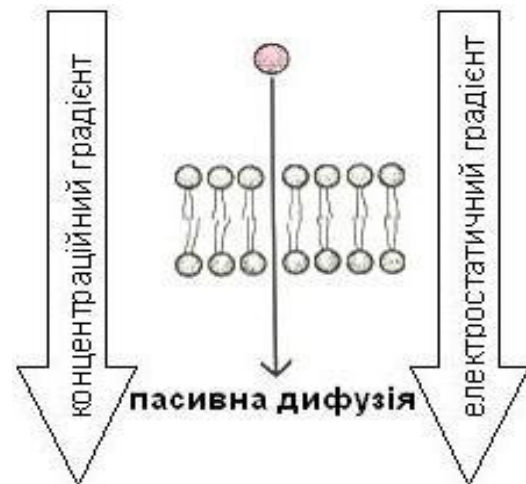
S – площа поверхні мембрани,

C_1 і C_2 – концентрація речовини по різні боки мембрани,

d – товщина мембрани.

Тривалий час існувала точка зору, що процес поглинання хімічних сполук органами і тканинами гідробіонтів необхідно розглядати як односпрямоване проходження розчиненої речовини з розчину в організм. Механізм такого процесу полягає у пасивній дифузії. Пасивна дифузія має місце тоді, коли хімічний елемент із середовища з високою концентрацією переходить у менш концентроване середовище (рис.5). Перенесення речовин здійснюється у відповідності із концентраційним і електростатичним градієнтом.

Рис.5. Схема процесу пасивної дифузії речовин у клітини риб



Таке перенесення властиве неполярним або малим незарядженим полярним молекулам. Чим менше молекула і чим більшою ліпофільністю вона характеризується, тим краще проходить крізь мембрану. Неспецифічна дифузія не використовує ніяких спеціальних механізмів для свого здійснення.

Таке перенесення супроводжується зменшенням вільної енергії і відбувається самовільно до моменту досягнення концентраційної рівноваги по обидва боки мембрани. А оскільки речовини, що надійшли у клітину, постійно зв'язуються з реакційними субстратами і включаються у метаболічні процеси, то градієнт їхніх концентрацій змінюється мало і пасивна дифузія може тривати довго.

Полярні молекули або заряджені іони не здатні проходити через подвійний ліпідний шар шляхом простої дифузії. Вони проникають у клітини за допомогою наявності у мембранах особливих білків, які формують транспортні канали (рис.6а). Полегшена дифузія токсичних речовин у клітини можлива і шляхом використання транспортних білків для груп споріднених молекул (рис.6б). Транспортні білки взаємодіють з молекулами речовини, яка має проникнути у клітину, і переміщують їх через подвійний ліпідний шар.

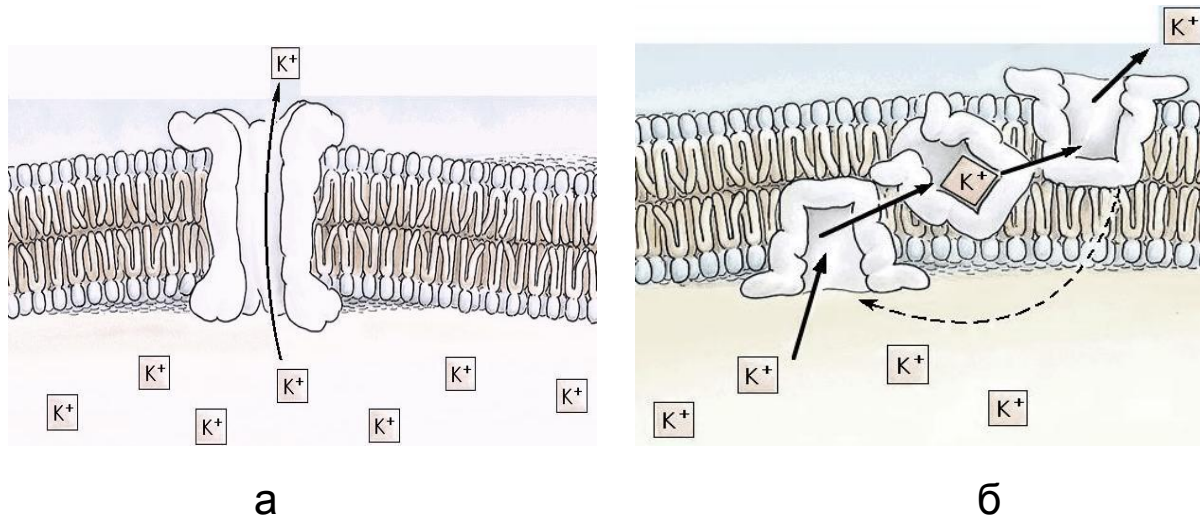


Рис.6. Дифузія іонів металів у клітини риб

через білкові канали та за допомогою транспортних білків

З часом, у результаті накопичення експериментальних матеріалів досліджень, проникнення розчинених у воді токсичних речовин та поживних елементів в організм водних тварин почали розглядати як двосторонній обмінний процес. Для такого проникнення необхідний вже інший механізм – активний транспорт, тобто вибіркоче витягання речовин із зовнішнього середовища, яке часто відбувається проти градієнта концентрації. Активне перенесення різних речовин забезпечується спеціальними структурами, що включають канали, медіатори, ферменти, які здійснюють переміщення специфічних іонів проти їхнього концентраційного градієнта за рахунок енергії АТФ. У подальшому дослідники дійшли висновку, що в мембрані будь-якої клітини функціонує особливий ферментативний механізм активного транспорту, регулюючий клітинну проникливість і селективний транспорт речовин (рис.7). Молекули різних речовин можуть переноситися через клітинну мембрану незалежно від наявності і перенесення інших речовин. Такий процес транспортування має назву юніпорт. Перенесення може здійснюватися і одночасно та односпрямовано з іншими групами речовин –

симпорт. І нарешті, транспортування різних сполук може бути обумовлене одночасним і протилежно спрямованим транспортом інших речовин – антипорт. Вважають, що симпорт і антипорт виступають складовими контртранспорту, за якого сумарний процес забезпечується наявністю і доступністю для перенесення обох складових.

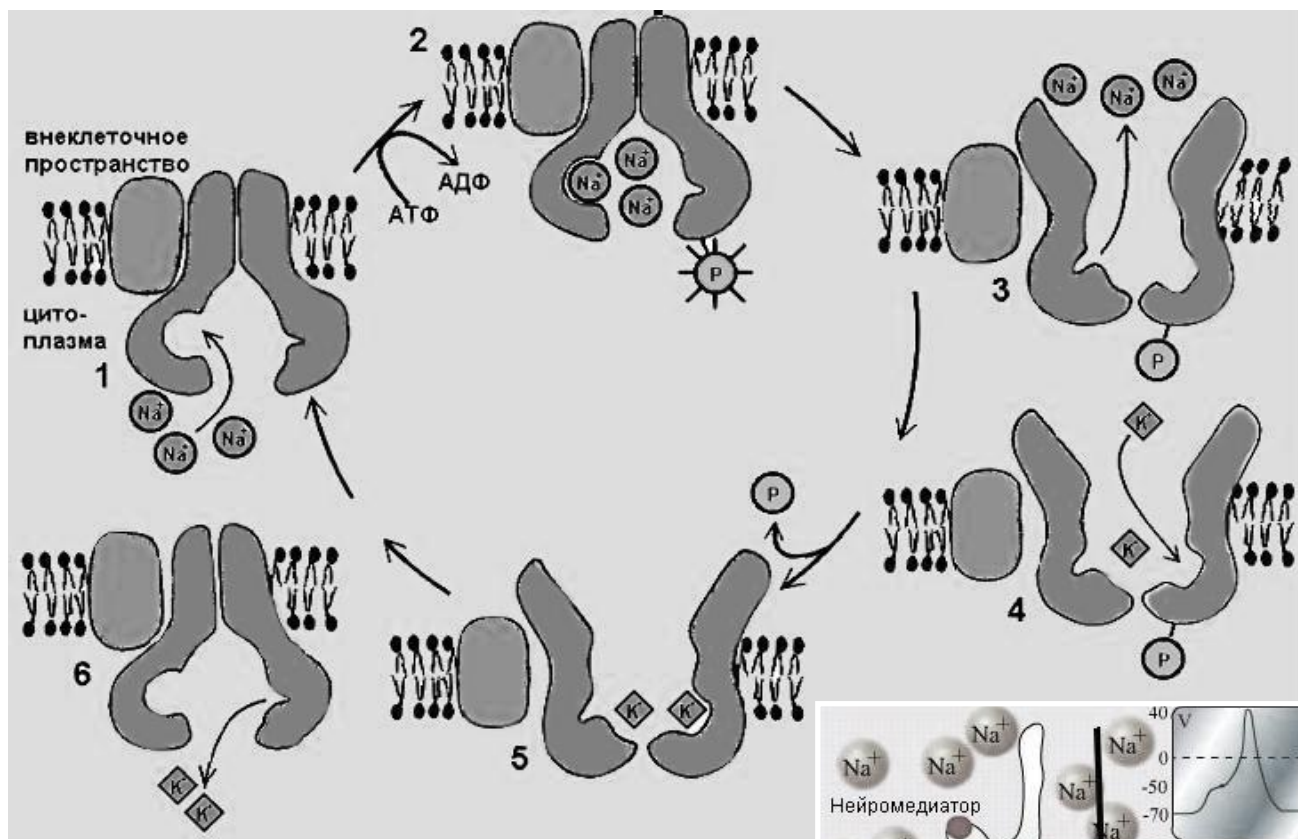


Рис. 7. Активний транспорт іонів через мембрани клітин

Надалі токсичні речовини можуть взаємодіяти з протеїнами і вуглеводами поверхневого шару мембран, вступати у зв'язок з одним або декількома специфічними білками, бути перенесеними на інші транспортні ліганди і можуть бути виділеними з клітин також за допомогою активного транспорту.

Активний обмін, по суті, є основою іонної регуляції елементарного складу організмів гідробіонтів.

Окрім описаних вище видів перенесення різних речовин існують також спеціальні механізми переміщення, пов'язані з порушенням цілісності клітинних мембран – фагоцитоз чи піноцитоз. Наприклад, частинки потенційно канцерогенного кристалічного NiS піддаються фагоцитозу випадковими фагоцитами риб, далі вони потрапляють у цитоплазматичні вакуолі, де, завдяки кислим значенням рН, NiS розчиняється. Іонний нікель може проникати у ядро клітин і взаємодіяти з ДНК чи РНК.

Більшість гідробіонтів, у тому числі і риби, здатні поглинати мікрочастинки і колоїдні розчини гідроксидів металів (наприклад, заліза) шляхом піноцитозу. До контакту з клітинною мембраною метали піддаються активній дії хелатів. Потім епітеліальні клітини залозистого апарату зябер риб захоплюють утворені гідроксиди металів за допомогою піноцитозу. При цьому на початкових етапах метали абсорбуються на поверхні мембран, а потім захоплюються, у результаті утворення внутрішньоклітинного міхурця. Надалі ці піноцитозні міхурці перетравлюються лізосомами з утворенням вторинних лізосом. Не виключається також можливість внутрішньоклітинної компартменталізації, за якої метали накопичуються в органелах клітин, наприклад, у мітохондріях або лізосомах.

Інтенсивність надходження різноманітних сполук у клітину і їхній внутрішньоклітинний перерозподіл безпосередньо залежать від швидкості обміну речовин у гідробіонтів. Так, встановлено прямий взаємозв'язок між швидкістю перебігу ферментативних реакцій трансформації токсичних речовин і проникливістю клітин для них. Тим часом, такий взаємозв'язок має місце лише у тому випадку, коли у навколишньому середовищі спо-

стерігається відносно висока концентрація субстратів для відповідних ферментативних реакцій. Відсутність таких умов призводить до того, що в клітинах розпочинає діяти механізм накопичення речовин з навколишнього середовища.

В організмі риб здатен акумулюватися будь-який токсичний реагент, швидкість виведення якого нижче швидкості його надходження до організму. Виведення токсичних речовин із організму відбувається активно на перших етапах інтоксикації. Далі швидкість виведення знижується внаслідок адаптивних змін метаболічних процесів. У цей період і можливе депонування токсикантів в тканинах і органах. В першу чергу токсиканти накопичуються в печінці, далі йдуть селезінка і нирки. Важкі метали можуть депонуватися у шкірі, зябрах, кістках, м'язах.

Депонування отрут у внутрішніх органах риб приводить до збільшення їхніх розмірів та маси (рис.8). Показник відношення маси органу, наприклад печінки чи селезінки, до загальної маси тіла, так званий індекс печінки чи селезінки, у разі його відхилення від норми у бік збільшення свідчить про накопичення токсичних речовин в організмі риб.

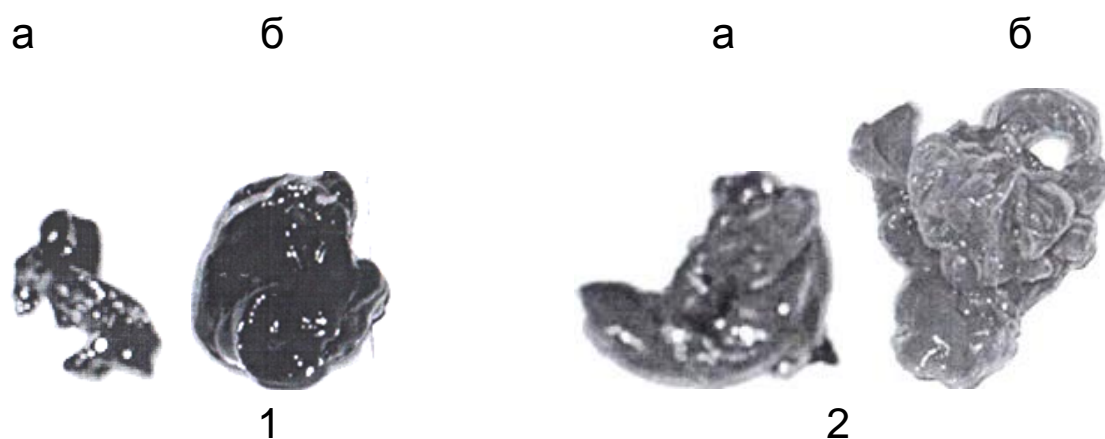


Рис. 8. Збільшення розмірів внутрішніх органів у коропа за дії токсичних речовин

- 1) селезінки за дії Cu^{2+} (а – контроль, б – дослід)
- 2) печінки за дії Pb^{2+} (а – контроль, б – дослід)

Кількість макро- і мікроелементів, що накопичуються в тканинах і органах риб, залежить і від часу перебування їх у токсичному середовищі. Зі збільшенням часу експозиції організму до отруту, рівень їхнього тканинного депонування зростає.

В тих органах, через які токсичні речовини надходять або виводяться із організму риб, чи де отрути накопичуються, спостерігаються морфологічні і функціональні зміни. Такі патологічні зміни відображаються на загальній клінічній картині отруєння та динаміці її розвитку. Характерними ознаками токсикозів виступають крововиливи у життєво важливі органи (мозок, зокрема довгастий, серце, печінку, нирки).

Механізм дії більшості отруту тісно пов'язаний із включенням їх у різні ланки біологічних процесів за рахунок фізико-хімічних і хімічних реакцій. Первинні молекулярні взаємодії є пусковим механізмом будь-якої інтоксикації. Наступні зміни після цього супроводжуються комплексом процесів-відповідей на вторгнення токсикантів. Весь діапазон цих відповідних реакцій, від фізіологічної адаптації і компенсації порушених функцій до розвитку інтоксикацій різного ступеню обумовлений взаємодією отрути зі структурами організму. Цей «пусковий механізм» розвивається, модифікується і доповнюється різноманітними видами регуляції взаємодії організму з хімічними факторами середовища існування.

Виведення токсичних речовин із організму риб відбувається через органи дихання, в тому числі і у процесі осморегуляції, через шкіру, нирки та систему органів травлення. В механізмах контролю за вмістом в організмі риб токсичних речовин суттєву роль відіграє печінка, найважливішою функцією якої є детоксикація ксенобіотиків та їхніх метаболітів за рахунок ферментативного розщеплення і зв'язування з термостабільними білками,

які містять значну кількість цистеїну і глутатіону, а також низкою низько- і високомолекулярних білків. Наприклад, у відповідь на надходження в організм риб металічних отрут (хімічні сполуки, що містять іони металів) у печінці індукується синтез металотіонеїнів, які зв'язують іони металів з високомолекулярною фракцією білка. Металотіонеїни, описані більш ніж у 80 видів риб та безхребетних. Гідробіонти, які синтезують металотіонеїни, акумулюють металічні отрути в 10-40 разів сильніше, ніж ті, хто їх не синтезує.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть, дослідженням яких проблем займається токсикокінетика як розділ іхтіотоксикології
2. Вкажіть основні шляхи надходження токсичних речовин в організм риб
3. Вкажіть, який шлях надходження токсичних речовин в організм риб вважається основним і найбільш значущим
4. Вкажіть, що лежить в основі механізму дії токсичних речовин на організм риб
5. Вкажіть, які процеси забезпечують проникнення токсичних речовин через плазматичні мембрани
6. Вкажіть, як визначається швидкість проникнення токсичних речовин через плазматичні мембрани клітин
7. Охарактеризуйте пасивний транспорт токсичних речовин в клітини риб
8. Охарактеризуйте активний транспорт токсичних речовин в клітини риб
9. Вкажіть чинники, від яких залежить інтенсивність надходження токсичних речовин в організм риб

10. Вкажіть, внаслідок чого починається накопичення токсичних речовин в організмі риб
11. Вкажіть, які токсичні речовини здатні накопичуватися в організмі риб
12. Вкажіть, яку роль в ході інтоксикацій у риб відіграє печінка
13. Вкажіть, для чого використовують такі показники як індекс печінки та індекс селезінки
14. Вкажіть шляхи виведення токсичних речовин із організму риб
15. Вкажіть, яку роль виконує печінка риб за виведення токсичних речовин із їх організмів

ТЕМА 4. Біологічні аспекти іхтіотоксикології

Виникнення і розвиток токсичного ефекту в організмі риб, його вираженість визначаються особливостями резистентності організму риб, його вихідним функціональним станом та рівнем реактивності.

Загальноприйнятим тлумаченням змісту поняття «резистентність» є розуміння його як стійкості організму до дії екстремальних факторів різної природи, у тому числі і до дії токсичних речовин.

Стійкість – це здатність живого організму якомога довше виживати за тривалої дії на нього низьких концентрацій токсичних речовин або за короткотривалої дії їх високих концентрацій за рахунок включення регуляторно-компенсаторних механізмів.

Оцінка стійкості риб до отрут здійснюється за концентрацією речовин, яка викликає загибель певного проценту піддослідних організмів (LC_{50} , LC_{100}) до встановленого терміну, або до часу їх виживання у токсичному розчині заданої концентрації. При цьому чим раніше будуть ввімкнені регуляторно-компенсаторні механізми організму – зміна проникливості мембран клітин, метаболічні перетворення, детоксикація і виведення чужорідної речовини, – які забезпечують короточасну або тривалу адаптацію організму до даного токсиканту, тим більше часу буде для виживання (тим вище стійкість) і тим більш вірогідно, що у випадку припинення токсичної дії організм виживе.

Очевидно й інше: регуляторні механізми будуть ввімкнені тим раніше, чим більш чутливий до дії стрес-фактору даний організм на тому чи іншому етапі індивідуального розвитку.

Чутливість – це здатність живих організмів сприймати дію зовнішніх або внутрішніх подразників. Чутливість організму до

відповідних подразників залежить від будови і особливостей функціонування його сенсорних та аналізаторних систем. Чутливість риб до отрут характеризується величиною порогу відчуття.

Поріг відчуття – це мінімальна сила подразнення, яка здатна викликати за даних умов хоча б мінімальну реакцію, яку можна зафіксувати. Чим нижче поріг відчуття, тим вища чутливість риб до подразнення, чим вище поріг – тим чутливість нижча. Розрізняють абсолютну і диференційовану чутливість.

Абсолютна чутливість – це реакція організму на будь-яку дію будь-якої отрути, **диференційована** – це чутливість організму до зміни дії чи її характеру.

Відповідно до цього розрізняють абсолютний і диференційований пороги відчуття.

Абсолютний поріг відчуття – це мінімальна сила подразнення, яка здатна викликати появу реакції.

Диференційований поріг відчуття – це мінімальна величина, на яку потрібно змінити подразнення, щоб викликати зміну реакції-відповіді.

За фізіологічним змістом поняття «чутливість» співпадає з поняттям «збудливість».

Збудливість – це здатність живих клітин (нервових, м'язових, залозистих) організму риб активно реагувати на різноманітні впливи зовнішнього або внутрішнього середовища. Рівень збудливості визначається порогом збудливості. Мірою збудливості є мінімальна сила подразнювача, у нашому випадку хімічного, яку називають порогом подразнення.

Поріг подразнення – це найменша сила подразника, здатна викликати збудження нервових, м'язових або залозистих клітин. Поріг подразнення визначається властивостями токсич-

ної речовини. Чим більша мінімальна сила хімічного подразнювача необхідна для виклику реакції-відповіді, тим вище поріг подразнення і тим нижче збудливість та чутливість організму до даної речовини. Чим нижче поріг подразнення, тим вище збудливість і чутливість організму. Подразники, які не викликають реакції живої тканини, називаються підпороговими, а ті, що викликають реакцію сильнішу ніж порогова, називаються надпороговими. Величина порогу подразнення залежить і від властивостей збудливих тканин та їх фізіологічного стану.

У визначенні самого факту і ступеню токсичності досліджуваної речовини, кількісної і якісної характеристик токсичного ефекту важливе значення мають видові, вікові й індивідуальні особливості риб. Врахування їх необхідне для експериментального обґрунтування ГДК різних груп токсичних речовин і оцінки токсикологічної ситуації на рибогосподарських водоймах. Вивчення видових особливостей токсикорезистентності риб має важливе значення і для розуміння адаптаційних можливостей різних видів риб, а також спрямованості змін видового складу іхтіофауни у конкретній водоймі під впливом отрут промислових стічних вод. Крім того, знання видових особливостей токсикорезистентності дозволяє коректно обирати тест-об'єкти для визначення порогових і гранично допустимих концентрацій токсичних речовин за нормування якості води у водних об'єктах.

Для оцінки чутливості організму до дії токсикантів першочергове значення має питання щодо первинної реакції організму на цей подразник. Чутливість певного виду риб до різних отрут, які містяться у промислових стічних водах, буде змінюватися в залежності від того, яка функціональна система обрана в якості індикатора (ефектора) для визначення швидкості прояву реакції-відповіді риб на визначену концентрацію отрути, за якою

судять про ступінь чутливості риб до отрути. Оскільки у різних таксономічних і екологічних груп риб функціональні системи і різні відділи центральної нервової системи розвинені і диференційовані неоднаково, у кожному конкретному випадку отруєння залежно від природи отрути і механізму її токсичної дії для визначення порогу чутливості необхідно вибирати ті функціональні системи, в діяльності яких в першу чергу відмічаються зсуви (рухова, дихальна, серцево-судинна).

За чутливістю до отрут риб розділяють на дві групи:

- високочутливі – райдужна і струмкова форель, плітка, йорж;
- низькочутливі – білизна, лящ, миньок, синець, карась.

Щука і окунь займають проміжне положення.

Серед осетрових найбільш чутливі до отрут осетер і стерлядь, найменш – севрюга.

Чутливість риб до дії токсичних речовин тісно пов'язана зі способом їхнього життя, перш за все з характером і вираженістю моторики. Провідну роль у визначенні порогу збудливості і чутливості риб до отрут відіграє ступінь розвитку локомоторного апарату. Високу чутливість до токсикантів мають риби з високим ступенем розвитку локомоторного апарату, тобто активно рухомі види.

У рівні стійкості до отрут не виявлено суттєвих відмінностей у систематично близьких видів риб і спостерігається подібність між систематично віддаленими видами. Це має важливе значення у практичному відношенні. Оскільки стійкість близьких видів риб приблизно однакова, дані, які характеризують мінімальні летальні і гранично допустимі концентрації, отримані на одних видах риб, можуть без ризику використовуватися і для інших видів.

Відсутність відмінностей у рівні стійкості до отрут у систематично близьких видів риби і подібність за цією ознакою між систематично віддаленими видами свідчить про те, що токсикорезистентність не можна використовувати як функціональний критерій видової специфічності.

За стійкістю до отрут також виділяють дві групи риби:

- високостійкі – карась, сом, плітка, лящ, осетер;
- малостійкі – йорж, миньок, чехоня, судак, райдужна і струмкова форель.

Стійкість різних видів риби до дії отрут залежить від характеру їхнього живлення. Хижаки і напівхижі риби менш стійкі до впливу токсикантів нервової дії, ніж мирні риби. Це відображається не тільки на часі загибелі риби у токсичних розчинах рівної концентрації, а і на пороговій та летальній концентраціях, які для мирних риби у 2,0-2,5 рази вище, ніж для хижих та напівхижих. Існування чітких відмінностей у стійкості хижих і мирних риби до отрут з переважною дією на ЦНС може бути пов'язане з різним ступенем розвитку окремих відділів їхньої ЦНС, а також контактних і дистантних рецепторів у цих груп риби.

Більш висока стійкість до отрут у мирних риби порівняно з хижими і напівхижими може бути обумовлена і неоднаковою вираженістю компенсаторних реакцій у відповідь на стресуючу дію отрут.

Виходячи з наведеного вище матеріалу, для проведення іхтіотоксикологічних досліджень, спрямованих на встановлення гранично допустимих концентрацій токсикантів, необхідно як тест-об'єкти обирати найменш стійкий вид риби даної водойми, оскільки він буде лімітуючою ланкою у ланцюзі реакцій іхтіоценозу на токсичну дію отрут промислових стічних вод. У ряді випадків показником токсичності скидних вод є реакція якого-

небудь надзвичайно малостійкого і високочутливого виду риб. Наприклад, в Англії для встановлення ГДК різних отрут промислових стічних вод та для вирішення питання про можливість їхнього скидання в ту чи іншу водойму використовують *Rasbora geteromorpha*.

Реактивність риб на дію отрут неоднакова в різні сезони року. Сезонний фактор має суттєве значення при визначенні токсикорезистентності риб, оскільки впливає на їхній вихідний функціональний стан.

Більш висока стійкість риб до отрут у зимовий період, низька – влітку. Це пов'язано з сезонними особливостями метаболізму риб за різної температури зовнішнього середовища, оскільки риби відносяться до пойкилотермних тварин. Узимку за низьких температур води у риб рівень обміну речовин, як правило, знижується і кількість отрути, яка потрапляє до організму за одиницю часу зменшується, тобто знижується дозове навантаження на організм. Для виникнення і розвитку токсичного ефекту необхідний триваліший проміжок часу. Улітку за підвищення температури води інтенсивність обміну речовин зростає, дозове навантаження збільшується й отруєння відбувається швидше. Таким чином, стійкість риб до отрут визначається рівнем їхнього метаболізму і залежить від факторів, які впливають на його інтенсивність. Експериментально встановлено температурний коефіцієнт, який вказує, що за зниження температури води на 10°C час прояву симптомів отруєння віддаляється у часі в 1,9-3,4 раза. За підвищення температури води на 10°C час прояву отруєння зменшується, але рівень такого зменшення залежить від токсичності хімічної сполуки та механізму її токсичної дії. Наприклад, за отруєння важкими металами зі збільшенням те-

мператури води на 10°C час виживання риб скорочується практично на 50%.

Різкий перепад температури води сам по собі може викликати масову загибель цінних промислових риб, таких як форель, тріска, оселедець й ін.

Сезонні коливання токсикорезистентності риб можна використовувати для вирішення практичних завдань, пов'язаних з визначенням режиму скидання високотоксичних компонентів промислових стічних вод, які здатні швидко нейтралізовуватися природним шляхом. Такі води припустимо скидати у водойми лише за низьких температур. Базуючись на такому положенні, для великих промислових підприємств розробляються і затверджуються регламенти скидання стічних вод у природні водойми. Наприклад, для річки Інгулець, що протікає через велике промислове місто Кривий ріг, регламент скидання промислових стічних вод для металургійних комбінатів передбачає зменшення обсягів скидання улітку та збільшення їх взимку. Це дозволяє понизити антропогенне навантаження на річкову екосистему та забезпечити збереження її іхтіофауни.

Експериментальними дослідженнями доведено, що токсикорезистентність риб залежить від цілої низки екологічних факторів. Окрім температури води на неї ще впливають вміст розчиненого у воді кисню, вуглекислого газу, мінеральних і органічних сполук, рН, жорсткість, швидкість течій і т.д.

Дефіцит кисню у воді підвищує частоту дихання риб, що обумовлює збільшення обсягів фільтрації води через зябра і, як наслідок, забезпечує надходження більшої кількості розчинених токсичних речовин в організм за одиницю часу, тобто збільшує дозове навантаження, що пришвидшує розвиток інтоксикації. Наприклад, за 30%-ного насичення води киснем стійкість риб до

токсичних речовин знижується в 7 разів порівняно зі 100%-ним насиченням. Крім того, низькі концентрації кисню зменшують ступінь окиснення токсичних речовин у зовнішньому середовищі і вся їх активність припадає на живі об'єкти.

Зміна активної реакції середовища в той чи інший бік від нейтрального значення відчутно підвищує ступінь токсичності забруднюючих водойми речовин і одночасно зменшує опірність живих організмів щодо їхньої дії. При цьому маються на увазі не крайні величини рН, які токсично діють на риби самі по собі, а ті, які самі не викликають токсичного ефекту. Наприклад, навіть незначне підкиснення водного середовища переводить нерозчинні окиси і гідроокиси важких металів в іонну форму, що підвищує їхню рухливість і активність у водному середовищі та зменшує можливість біологічних мембран протистояти проникненню іонів металів в організм риби та їхній взаємодії з органами-мішенями. Від величини рН водного середовища залежить ступінь токсичності таких отрут як аміак, солі амонію, ціаніди, деякі сполуки хрому, заліза (хлорне і сірчаноокисле), марганцю, міді, свинцю, стронцію. Проте є і такі отрути, токсичність яких для риби не залежить від рН середовища, наприклад, хлорорганічні і фосфорорганічні пестициди.

Токсична дія багатьох солей лужних, лужноземельних і важких металів знижується у жорсткій і морській воді. З фізико-хімічної точки зору це пояснюється тим, що високомінералізовані води, які містять солі калію, натрію, магнію, кальцію і барію, знижують розчинність токсичних речовин, утворюючи нерозчинні або малорозчинні осади. Токсичність отрут у цьому випадку знижується у десятки разів. З біологічної точки зору зниження токсичності отрут у жорсткій воді, пояснюється тим, що іони кальцію знижують проникність клітинних мембран, зменшуючи

проникнення отрути всередину клітин. Наприклад, спостерігається зниження токсичності нітрату свинцю за додавання до його розчину кальцію хлористого, солей міді за додавання солей магнію, сірчанокислового цинку в присутності іонів Ca^{2+} . У м'якій і дистильованій воді стійкість риб до токсичних речовин різко знижується. Проте, токсичність аніоноактивних і неактивних детергентів зовсім не залежить від жорсткості води. Невідомі випадки і зміни токсичності фосфорорганічних пестицидів для риб в залежності від зміни показників жорсткості води.

Серед екологічних факторів за характером їх впливу на токсикорезистентність риб виділяють 2 групи:

- фактори прямої дії на фізіологічні функції організму риб (зміна проникливості зябер, шкіряних покривів, мембран, зміна інтенсивності метаболічних процесів і т.і.), які сприяють швидкому проникненню отрут в організм;
- фактори, які впливають на отруту, змінюючи її концентрацію або фізико-хімічні властивості.

При цьому один і той же фактор може діяти як безпосередньо, так і опосередковано.

За механізмом впливу на токсикорезистентність риб екологічні фактори поділяють на 3 групи:

- фактори, які мають вплив на властивості забруднюючих речовин;
- фактори, які впливають на час і умови контакту організму з отрутою;
- фактори, які впливають на чутливість організмів до забруднення.

До першої групи відносять:

- а) вміст у воді кисню (зміна швидкості окиснення стічних вод); б) вміст у воді мінеральних речовин (коагуляція, синергізм і антагонізм різних компонентів стічних вод);
- в) вміст у воді органічних сполук (утворення комплексних сполук з токсикантами, адсорбція отруту);
- г) кислотність водного середовища (зміна ступеню дисоціації токсичних речовин на іони);
- д) вміст у воді вуглекислого газу (зміна спрямованості перебігу хімічних реакцій і буферних властивостей води).

До другої групи відносяться:

- а) швидкість і особливості течій (зміна швидкості розбавлення стічних вод, накопичення стічних вод в певних частинах водойми, осадження зважених частинок на дно);
- б) розподіл живих організмів у водоймі (попадання організмів у зону токсичної дії, чи відсутність організмів у зоні токсичної дії стічних вод).

До третьої групи відносяться:

- а) видова приналежність риб;
- б) вік риб;
- в) стать особин;
- г) розмір особин;
- д) скупченість організмів (щільність посадки);
- е) зараженість паразитами, інфекціями.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Дайте визначення токсикорезистентності риб
2. Розкрийте суть поняття чутливість риб до отруту
3. Дайте визначення поняттю поріг відчуття риб за дії отруту
4. Вкажіть, що таке абсолютна чутливість риб до дії отруту

5. Вкажіть, що таке диференційована чутливість риб до дії отрут
6. Дайте визначення абсолютного порогу відчуття риб до дії отрут
7. Дайте визначення диференційованого порогу відчуття риб до дії отрут
8. Вкажіть, яке значення для розуміння токсичних процесів в організмі риб відіграє поняття збудливості тканин
9. Які тканини риб характеризуються високою збудливістю за дії на них токсичних речовин
10. Дайте визначення порогу подразнення за перебугу токсичних процесів в організмах риб
11. Розкрийте видові особливості токсикорезистентності риб
12. Вкажіть чинники, які визначають чутливість риб до дії отрут
13. Вкажіть, які групи виділяють серед риб за чутливістю до дії отрут, назвіть представників кожної групи
14. Вкажіть, з чим пов'язана чутливість риб до дії отрут
15. Вкажіть, чи існують видові особливості токсикорезистентності риб
16. Вкажіть, на які групи поділяють риб за стійкістю до дії отрут
17. Охарактеризуйте сезонну динаміку токсикорезистентності риб
18. Вкажіть, яке практичне значення мають сезонні зміни токсикорезистентності риб
19. Вкажіть, які ще екологічні чинники водних екосистем впливають на токсикорезистентність риб і охарактеризуйте їх вплив
20. Вкажіть, на які групи поділяють екологічні чинники водойм за характером їх впливу на токсикорезистентність риб

ТЕМА 5. Фізіологічні аспекти іхтіотоксикології

Фізіологічні аспекти іхтіотоксикології стосуються розгляду основних дисфункцій та патологій клітин, тканин і органів риб, що формуються під впливом токсичних речовин.

Ідентифікація патологій і дисфункцій будь-яких систем організму риб, які виникають під впливом забруднюючих речовин, що надходять у водойми з різних джерел, важлива для встановлення причин зниження чисельності чи зникнення взагалі популяцій риб, прогнозування популяційної динаміки іхтіофауни в умовах токсичного навантаження, а також для розробки стратегії і методів збереження та відновлення рибних ресурсів за сучасних екологічних умов в наших водоймах.

Патологічні зміни тканин, органів і їх систем у риб дають можливість оцінити ступінь інтоксикації організму, яка негативно відбивається на їх розмноженні, рівні виживання і смертності. Окремі органи виконують специфічні функції, які забезпечують цілісність функціонування організму, тому їх патофізіологічні зміни показують як загальне токсичне навантаження на організм, так і специфічний вплив тих чи інших речовин, тобто певні органи можуть виступати функціями-мішенями для дії токсикантів.

Різностороння і комплексна оцінка патологічних змін у тканинах і органах риб має важливе значення і з точки зору їх неоднакової чутливості до токсикантів у водному середовищі. Патологічні зміни в організмі риб дозволяють визначити ступінь токсичності водного середовища і сформулювати уяву щодо потенційної небезпеки різних груп токсичних речовин, які потрапляють у водойми, та їх кумулятивної дії на організм впродовж всього життєвого циклу.

Зміни у шкіряних покривах і зябровому апараті риб під впливом токсичних речовин

Шкіра риб, як і будь-яких інших тварин, забезпечує взаємодію внутрішніх органів із зовнішнім середовищем. Вона дуже чутлива до стресових хімічних впливів, у тому числі і до дії токсичних речовин. Основною реакцією клітин шкіри на дію отрут є продукування і секреція слизу. Витримування риб у воді з токсичними металами чи кислим рН стимулює посилене виділення слизу, збільшення кількості слизистих гранул у шкірі та розмірів (гіпертрофія) залозистих клітин.

Бар'єрну функцію виконують і зябра. Крім того вони забезпечують газообмін, іонну регуляцію, збереження кислотно-лужного балансу, екскрецію азотистих продуктів обміну речовин. Епітелій зябер є і шляхом проникнення в організм риб розчинних токсичних сполук, зокрема мінеральних солей, ароматичних вуглеводнів (ефіри, ацени, оксиди алкенів).

Найбільш характерними пошкодженнями зябер під впливом токсичних речовин є відшарування респіраторного епітелію, некрози (локальне відмирання тканин), гіпертрофія (збільшення розмірів клітин), гіперплазія (збільшення кількості клітин) епітелію і хлоридних клітин, крововиливи, хрящова дисплазія (зміна розміру, форми та будови клітин тканини), а також збільшення кількості лізосом у клітинах епітелію. Під впливом токсичних агентів часто спостерігається проліферація (розростання через розмноження та збільшення кількості) мукоїдних клітин і посилена секреція слизу. Гіперплазія епітелію спричиняє зростання зябрових ламел між собою, потовщення їх дистальних кінців, зменшення розмірів і викривлення ламел. Все це призводить до перетворення зябрового апарату у безструктурну масу.

Відомо, що вплив таких важких металів, як кадмій, цинк і мідь на прісноводних риб викликає зростання кількості хлоридних клітин у зябрах, їх гіпертрофію та руйнацію.

Негативними для організму риб є і пошкодження, пов'язані з порушенням кровотоку, у тому числі закупорка судин, аневризми, тромби, звуження кров'яних синусів.

В умовах закиснення водного середовища більшість фізіологічних порушень (іоно- і осморегуляція, кислотно-лужний дисбаланс, дисфункції дихальної і кровоносної систем) напряду пов'язані зі зміною структури і функції зябер. Це пояснюється підвищенням ступеню розчинності солей у кислому середовищі і втратою кальцію зябровим епітелієм, що зменшує здатність зябер контролювати мембранну проникність і викликає порушення іонної регуляції. Крім того іони H^+ викликають ацидоз крові.

Таким чином, зябра виступають високочутливою функцією-мішенню для багатьох токсичних забруднювачів водою, і зокрема кислот, лугів, окислювачів, солей важких металів і т.д. Будь-яке пошкодження респіраторного епітелію зябер веде до порушення дихання. Мінімальні ушкодження або ушкодження середньої важкості, які не викликають загибелі, спричиняють зміну поведінкових реакцій, які забезпечують конкурентоздатність особини у середовищі (пошук їжі, ухиляння від ворогів і т.д.).

Зміни у сенсорних системах і нервових тканинах риб у токсичному середовищі

Згідно сучасних уявлень сенсорної фізіології первинне сприйняття хімічних подразників, які надходять у воду, рибами,

як і іншими хребетними тваринами, здійснюється спеціалізованими хеморецепторами – спеціальними утвореннями, де здійснюється трансформація енергії подразнюючого стимулу у сигнали, які несуть нервовим центрам інформацію про діючий агент. Аферентна імпульсація, яка виникає у хеморецепторах, спрямовується до ЦНС, у результаті чого організм отримує інформацію щодо присутності у водному середовищі тих чи інших хімічних сполук.

Хімічна рецепція риб включає нюх, смак і загальне хімічне відчуття.

Найважливішими фізіологічними властивостями будь-якого рецептора є чутливість до адекватного стимулу. Рівень чутливості оцінюється порогом збудження, тобто мінімальною величиною стимулу, здатною викликати збудження. Величина порогу обернена величині збудливості.

Існують різні методи реєстрації нюхових порогів пахучих речовин (реєстрація змін умовних рефлексів, поведінкових реакцій, електричної активності під впливом токсикантів зі специфічними запахами). За їх допомогою вдалося встановити, що риби мають досить високу чутливість нюхових рецепторів, яка в сотні разів перевищує чутливість нюхової рецепції людини. Це дозволяє риbam сприймати надзвичайно малі концентрації хімічних речовин, які мають запах. Електрофізіологічними дослідженнями підтверджена висока чутливість нюхової рецепції риб, які добре сприймають різні органічні сполуки – спирти, кетони, альдегіди, кислоти, ефіри, феноли і їх похідні.

Ненюхова хімічна рецепція риб (відчуття смаку і загальна хімічна чутливість) також висока. Рецепторний апарат смакової системи риб представлений смаковими сосочками, розташованими у слизовій оболонці ротової порожнини, на зябрах і зовні-

шній поверхні. Крім того, сприйняття хімічних подразників здійснюється вільними нервовими закінченнями трійчастого, блукаючого і спинномозкових нервів. Зовнішні смакові сосочки риб високочутливі до різних речовин. Наприклад, смакова чутливість у гольянів, по відношенню до глюкози в 1,6 раза, до фруктози – в 2,5, до хініну – в 24, до кухонної солі – в 205 разів вище, ніж у людини.

Сенсорні системи риб (смакові і нюхові рецептори, органи чуття бічної лінії), розташовані на поверхні тіла, або у незначних заглибленнях, достатньо доступні для впливу зовнішнього середовища. Токсичні речовини, які надходять у воду, можуть порушувати нормальні хемосенсорні функції риб, маскуючи сигнали або протидіючи їм, а також можуть викликати пошкодження рецепторів. Наукові дослідження встановили можливість накопичення токсичних речовин в сенсорних органах. Наприклад, у внутрішньому вусі риб накопичується ртуть, що впливає на їх координацію у просторі; у нюховому епітелії накопичуються важкі метали, спричиняючи його некрози та унеможливаючи нюхову рецепцію.

Під впливом токсичних речовин різної хімічної природи відбуваються органічні зміни в очах костистих риб. Наприклад, за дії поліциклічних ароматичних вуглеводнів та важких металів відмічається розвиток катаракти кришталика ока риб, кришталик розширюється, втрачає твердість, спостерігаються кровотечі у передній камері ока.

Риби за чутливістю до хімічних подразників займають особливе положення серед гідробіонтів, оскільки лише вони мають не тільки досконалий рецепторний апарат, а і розвинену центральну нервову систему зі спеціалізованими аналізатора-

ми, призначення яких інформувати організм щодо присутності в оточуючому середовищі різноманітних хімічних речовин.

Багато токсикантів, які надходять до рибогосподарських водойм, уже у підпорогових концентраціях можуть змінювати функціональний стан ЦНС в цілому або окремих її аналізаторних систем, блокувати чи виводити з ладу периферичні відділи аналізаторних систем, які впливають на поведінкові реакції риб, обумовлені абіотичними і біотичними факторами водного середовища.

Порушення аналізаторної діяльності ЦНС риб, їх здатності сприймати і адекватно реагувати на зміни оточуючого середовища під впливом підпорогових концентрацій хімічних забруднень може мати суттєвий вплив на складні форми поведінки риб у природних водоймах – нагульні, зимувальні і нерестові міграції, орієнтацію у просторі, взаємовідношення з хижими видами риб, виявлення і уникнення токсичних речовин.

Таким чином, основну роль у визначенні найбільш характерних компонентів реакцій-відповідей риб на токсичну дію отрут відіграє головний мозок.

Однією з найбільш ранніх реакцій риб на отруєння поряд зі зміною інтенсивності локомоторної діяльності є втрата рефлексу рівноваги, центри координації рівноваги знаходяться в основі середнього мозку. Середній мозок відіграє провідну роль у розвитку цілої гама рефлекторних реакцій риб на дію отрут.

Поряд із середнім мозком важливу роль у визначенні характеру і кінцевого ефекту інтоксикацій відіграє довгастий мозок, який представляє собою багатозначний рефлекторний центр найважливіших функцій організму, у першу чергу процесів дихання і кровообігу. Є підстави вважати, що основною причиною

загибелі риб у токсичних розчинах багатьох отрут є незворотній параліч дихального центру.

Локомоторний апарат спинного мозку приводиться в дію імпульсами з головного мозку. Спинний мозок при розвитку інтоксикації грає роль звичайного ланцюга рефлекторної дуги і виступає органом, який проводить імпульси, викликані подразниками токсичного характеру, від різних відділів головного мозку до периферичного нервово-мускуляторного апарату риб.

Для нервових тканин риб характерні такі ушкодження, як запальні процеси (гіперемія), клітинна гіперплазія, некрози, гідропічна вакуолізація клітин.

Зміни у кишково-шлунковому тракті і печінці під дією отрут

Кишково-шлунковий тракт є одним з основних шляхів надходження в організм риб ксенобіотиків. Під впливом токсичних речовин найчастіше спостерігаються такі патологічні зміни як відшарування епітелію в кишечнику, проліферація (збільшення кількості) мукоцитів стінок кишечника, гіперемія (надмірне наповнення кров'ю судин), атрофія (зменшення розмірів клітин) і метаплазія (перетворення одного різновиду тканини організму в інший), крововиливи на стінках кишечника.

Основним органом детоксикації отрут, які надходять в організм риб, є печінка. В ній містяться ферменти і кофактори, пов'язані з окисненням (1 фаза) і кон'югацією (2 фаза), які є основними етапами процесу детоксикації ксенобіотиків в організмі риб. У печінці акумулюється більша частина токсичних речовин, які потрапили в організм. Частина токсинів виводиться разом з жовчю. Близько 85% об'єму печінки займають гепатоцити. Зміни

в морфології гепатоцитів, а також клітин жовчного епітелію дають інформацію щодо функціонування цього органу в умовах токсичного забруднення водойм і можуть використовуватися у якості біомаркерів. Діагностичні показники пошкоджень печінки класифікують за їх значимістю в якості індикатора інтоксикації. Особлива увага надається таким пошкодженням як неоплазії (новоутворення).

Hylland & all. (2003) виділяє такі ушкодження печінки під впливом токсичних речовин, як: 1) дегенеративні зміни (ліпоїдна дегенерація, печінковий фіброз, дифузний клітинний некроз, цироз, гіперплазія жовчних протоків, гідропічна дистрофія епітеліальних клітин жовчі); 2) скупчення клітинних змін, які розпізнаються завдяки кольоровій реакції з еозином і гематоксиліном – базофільні, еозинофільні знебарвлені клітини і вакуолізовані ділянки; 3) доброякісні пухлини (аденома, холангіома, гемангіома); 4) злоякісні новоутворення (карцинома, гемангіосаркома).

Патологічні зміни в печінці риб за умов дії токсичного забруднення можуть розвиватися впродовж тривалого часу.

Зміни у нирках риб у токсичному середовищі

Для більшості видів риб характерні власні морфологічні і фізіологічні особливості клітинної будови нирок, тому патогістологічні зміни ниркової тканини дуже рідко використовуються у якості індикаторів забруднення водного середовища. Головна нирка є складним органом з комплексом тканин, включаючи кровотвірні, імунні, ендокринні і ренальні.

Дослідженнями дії на організм риб токсичних речовин встановлені основні види ушкоджень в основному для видільної системи нирки: гідропічна вакуолізація клітин, наявність білок-

подібних структур, некроз епітелія видільних каналців. Типовими є зміни клубочків Боумена, підвищений вміст паренхімних клітин і фіброз (ущільнення сполучної тканини з появою рубцевих змін), а також потовщення базальної мембрани.

Деякі токсичні речовини, зокрема важкі метали, наприклад, кадмій і нікель акумулюються у нирці.

Тривале і поширене токсичне забруднення водою викликає зміни ниркової тканини по типу фіброзу, коли значні розростання сполучної тканини заміщають некротизовані ділянки ниркових каналців та інтерстиціальної тканини. У сполучній тканині між каналцями спостерігається запалення – дифузний кров'яний інфільтрат. Вени заповнені кров'ю, наявні застійні явища. Глибока ліпоїдна дегенерація ниркової тканини проявляється в наявності і структурованості жирової тканини, коли ліпоцити організовуються в групи (дольки), які відокремлюються одна від одної сполучнотканевими перегородками з кровоносними судинами. Прикладом гістопатологічних змін у нирках за умов отруєння може бути нефрокальцитоз – утворення чужорідних включень (каменів) темно-сірого кольору. За хімічною природою ниркові камені є фосфатами кальцію.

Щодо змін кровотворної тканини нирок під впливом токсикантів даних експериментальних досліджень не має.

Стан імунної системи риб у забруднених водоймах

Імунна система риб подібна до імунної системи ссавців: має сигнальні системи, неспецифічні і специфічні гуморальні і клітинні компоненти. На відміну від теплокровних тварин активність імунної системи риб залежить від температури води і вона має тільки імуноглобуліни класу М.

За умов існування у забрудненому середовищі у риб спостерігається ослаблення імунітету і вони стають малостійкими до інфекційних захворювань.

Клітинні неспецифічні відповіді оцінюються за допомогою визначення фагоцитарної або бактерицидної активності макрофагів.

У забруднених водоймах у риб знижується функція імунітету, що проявляється у зниженні кількості лімфоцитів, які відповідають за специфічну імунну відповідь, та зростанні вмісту у крові і селезінці кількості клітин з фагоцитарною активністю.

Вплив отрут на ендокринну систему риб

Найважливішими ендокринними органами у риб є гіпофіз, щитоподібна залоза, наднирники (міжниркова і надниркова залози), ендокринні клітини підшлункової залози. За дії отрут у водному середовищі у цих органах можуть спостерігатися некрози (локальне відмирання тканин), гіпертрофії (збільшення об'єму і маси клітин) і гіперплазії (збільшення кількості клітин).

Підтримання гомеостазу організму риб досягається шляхом забезпечення відповідного співвідношення концентрацій гормонів у кров'яному руслі у кожен послідуєчий проміжок часу, який відповідає певному етапові розвитку організму. Відхилення від нормального вмісту гормонів може свідчити про порушення синтезу, секреції, метаболізму і кліренсу гормонів.

Синтетичні і натуральні хімічні сполуки впливають на ендокринну систему риб шляхом зміни біохімічних сигналів або комунікаційної системи залоз, гормонів і клітинних рецепторів. Наслідки цих порушень відбиваються на рості, розвитку, відтворенні і т. д. риб.

Хімічні агенти можуть діяти наступним чином:

- 1) подібно натуральним гормонам зв'язуватися з рецепторами і впливати на проходження сигналу у клітину;
- 2) блокувати, перешкоджати або порушувати зв'язування гормонів з гормональними рецепторами;
- 3) порушувати синтез і руйнувати натуральні гормони;
- 4) модифікуювати продукцію і функціонування гормональних рецепторів.

Порушення діяльності ендокринної системи під впливом токсикантів можуть проявлятися одночасно у декількох напрямках. Вони каталізуються рядом ферментів, які модифікуються із базової молекули холестерину.

Патології хребта і мускульної тканини

Патології хребта у риб у забрудненому водному середовищі найчастіше пов'язані з порушенням мінерального обміну, дефіцитом і незасвоєнням кальцію. Вони проявляються у вигляді викривлень і остеопорозу. Подібні скелетні деформації спостерігаються у риб і в лабораторних умовах, і у природних водоймах. Найчастіше спостерігаються зміни кількості і будови хребців та променів плавців.

Експериментально доведено наявність двох механізмів розвитку патології кісткової тканини під впливом токсичних забруднень: 1) деполяризація і недостатнє засвоєння вітаміну С, яке викликає зниження синтезу гідроксипроліну, що є важливим компонентом колагенової матриці, де відкладається кальцій, який формує кісткову основу (така кістка ослаблена навіть за достатньої кількості кальцію); 2) судоми м'язів викликають деформацію хребта.

Основною патологією мускульної тканини риб під дією отрут є руйнування і некроз міофібрили, розшарування мускульного волокна (міопатія).

Система кровотворення риб як індикатор забруднення водоюм токсичними речовинами

Система кровотворення і кровообігу у риб – це взаємопов'язана і взаємообумовлена система органів, де утворюються, дозрівають і руйнуються клітини крові. Вона є чутливим індикатором усіх стресових умов, враховуючи і токсичне забруднення водоюм.

Зміни в картині крові при виникненні патологій поділяють на кількісні і якісні. Кількісні пов'язані зі збільшенням чи зменшенням величин гематологічних показників у порівнянні з «нормою»; якісні – з порушенням співвідношень між форменими елементами крові.

Гемопоетичні тканини риб розташовані в селезінці і головній нирці. Метаболічно вони дуже активні, тому є важливими інформаторами щодо стану навколишнього середовища. Під впливом токсичних речовин спостерігається пригнічення гемопоетичних процесів і у кров'яне русло надходять недозрілі клітини червоної і білої крові.

Концентрація гемоглобіну у крові риб за екологічного оптимуму складає 80-130 г/л. За умов розвитку інтоксикації в організмі вміст гемоглобіну у крові риб спочатку зростає вище норми, а пізніше різко знижується і може сягати 20 г/л. Розвивається анемія. У зонах токсичного забруднення можуть одночасно зустрічатися особини і з дуже низьким вмістом гемоглобіну у крові, і з зависоким у порівнянні з нормою. Зниження концентрації

гемоглобіну супроводжується появою у кров'яному руслі патологічних форм еритроцитів – вони збільшуються у розмірах, руйнується оболонка ядра і його внутрішній вміст надходить у цитоплазму. У цитоплазмі спостерігається вакуолізація. На останній стадії деградації від еритроцитів залишаються «тіні» - розмита пляма рожевого кольору.

Загальною закономірністю реагування елементів білої крові на інтоксикацію організму є збільшення кількості бластних форм – нейтрофілів і моноцитів. Їх склад і кількість визначаються силою і тривалістю дії на риб токсичного агента.

Підсумовуючи все викладене вище, необхідно відмітити, що патофізіологічні і гістопатологічні зміни виступають інтегральними показниками стану організму риб у забрудненому водному середовищі і можуть бути використані як біомаркери токсичного забруднення. Крім того, варто наголосити, що багато функціональних систем організму риб подібні таким же системам теплокровних тварин, що дозволяє прогнозувати наслідки забруднення водойм і для людини, як споживача водних ресурсів та водних біоресурсів.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть, яке значення для діагностування отруєння риб і нормування якості води щодо токсичного забруднення мають фізіологічні процеси риб
2. Вкажіть, які органи і функціональні системи риб першими реагують на наявність і дію токсичних речовин у водному середовищі
3. Розкрийте, які зміни відбуваються у шкіряних покривах і зябровому апараті риб за дії токсичних речовин

4. Вкажіть, як на забруднення водойм реагують сенсорні системи риб та нервові тканини
5. Вкажіть, які зміни фіксуються в органах травлення риб за їх отруєння токсикантами
6. Вкажіть, яку роль в детоксикації отрут виконує печінка і яких патологічних змін вона зазнає у токсичному середовищі
7. Охарактеризуйте патологічні зміни видільної системи риб за їх отруєння токсичними речовинами
8. Вкажіть, як змінюється стан імунної системи риб у токсичному середовищі
9. Охарактеризуйте вплив отрут на ендокринну систему риб
10. Вкажіть патології опорно-рухового апарату риб за дії на них токсичних речовин
11. Вкажіть, як реагує система кровотворення риб на дію токсичного забруднення водойм

ТЕМА 6. Біохімічні аспекти іхтіотоксикології

Розробка методів ранньої діагностики отруєння риб, встановлення порогових і гранично допустимих концентрацій токсикантів можливі лише на основі вивчення біохімічних механізмів токсичної дії різних груп токсичних речовин.

Знання токсикодинаміки тієї чи іншої речовини, механізмів її дії на організм риб дозволяє вибирати адекватні методи для оцінки порогових і гранично допустимих концентрацій цих речовин і тим самим значно скоротити час проведення експериментів.

Відомо, що різні групи токсикантів викликають глибокі зміни біохімічного складу і обміну речовин у риб задовго до їх загибелі, тому багато біохімічних показників можуть бути використані для діагностики отруєння риб токсикантами на ранніх етапах розвитку токсичного процесу.

Зміни у білковому обміні риб під впливом токсикантів

Багатогранна фізіологічна роль сироваткових і тканинних білків, а також здатність їх чутливо відображати зміни інтенсивності і спрямованості обміну речовин, зокрема пластичного обміну, дозволяють використовувати їх як найважливіший біохімічний показник функціонального стану організму як у нормі, так і за дії екстремальних подразників хімічної природи, у тому числі і токсичних речовин.

Концентрація білка сироватки крові є важливим інтегральним показником перебігу білкового обміну, його спрямованості та інтенсивності.

Наприклад, вплив на риб пестицидів проявляється у зниженні вмісту загального білку сироватки крові. Найбільш вираженою у цьому відношенні є дія метафосу.

Вираженість гіпопротеїнемічного ефекту пестицидів визначається їх концентрацією, часом дії на організм і видовими особливостями токсикорезистентності риб.

Під впливом отрут складної органічної природи відбуваються суттєві порушення у співвідношенні альбумінів і глобулінів, спостерігається збільшення грубодисперсних фракцій глобулінів і зниження колоїдної стійкості білків.

У цілому доведено, що вплив різних груп токсикантів на білковий обмін проявляється у зміні концентрації загального білку сироватки крові і його основних фракцій (альбумінів, α , β , γ -глобулінів).

У риб, які піддавались тривалому токсичному впливу сублетальних концентрацій деяких токсикантів, наприклад, токсаферену і ароклару, відмічено зниження кількості гідроксипроліну і колагену хребта, що може бути чутливим індикатором росту.

Отруєння токсаференом приводить до уповільнення темпу росту струмкової форелі через 3-4 тижні після зниження вмісту гідроксипроліну. Зниження концентрації гідроксипроліну, який входить до складу колагену, веде до уповільнення синтезу колагену і підвищення мінералізації хребта, що ззовні проявляється у вигляді симптому «зламана спина».

Другим важливим показником токсичної дії різних груп речовин на білковий обмін є вміст аміаку в крові і тканинах риб, перш за все у мозковій тканині. Як відомо, риби (поряд з ракоподібними) відносяться до групи амоніотилічних тварин, у яких кінцевим продуктом катаболізму білків і амінокислот є амік. Аміак і його водний розчин амоній високотоксичні. За нормальних

умов утворений в органах і тканинах аміак детоксикується за допомогою глютамінової кислоти. Взаємодія аміаку і глютамінової кислоти веде до утворення глютаміну, який надходить до печінки, де від нього відщеплюється аміак.

Динаміка вмісту кількості аміаку у мозку риб у результаті розвитку фенольної інтоксикації відображує серйозні зсуви у білковому обміні, які обумовлені впливом фенолу на центральну нервову систему риб. У головному мозку риб відбувається підвищення концентрації аміаку в період рухового збудження і судом, характерних для фенольної інтоксикації. Це свідчить про порушення процесів детоксикації аміаку у риб в системі дикарбонові кислоти-аміак-глютамін. Постійність і вираженість змін кількості аміаку в мозку риб дали підґрунтя для висновку, що йому належить важлива роль у патогенезі судорожного стану, обумовленого впливом на організм не лише фенолів, а й інших отрут органічного ряду.

Зростання концентрації аміаку у мозку риб під впливом деяких хлорорганічних пестицидів супроводжується підвищенням концентрації вільних амінокислот, зокрема аланіну, глютамінової і аспарагінової кислот, які відіграють важливу роль у процесах детоксикації аміаку.

Вивільнення аміаку і зростання його концентрації у головному мозку різних видів риб відмічено також у дослідах з нафтою, ртуттю, свинцем і кадмієм. Виразеність цих змін, їх тривалість визначається видовими особливостями риб, часом контакту їх з отрутою і природою токсиканту.

Таким чином, вміст аміаку, як кінцевого продукту катаболізму білків у тканинах і крові може бути використаний як один з чутливих біохімічних показників реакції риб на токсичні впливи.

Коливання амінокислотного складу тканин і органів отруєних риб

У процесі інтоксикації у риб спостерігаються коливання амінокислотного складу органів і тканин, які можуть бути викликані різними причинами, у тому числі і пригніченням синтезу білка, порушенням трансамінування, дезамінування і декарбоксілювання та посиленням розпаду білків, що веде до збільшення сумарного вмісту вільних амінокислот, а також змінюється активність ферментів, які контролюють обмін амінокислот.

Особливе значення має динаміка кількісних змін окремих груп амінокислот, зокрема, дикарбонових, а серед них глутамінової кислоти, яка є зв'язуючою ланкою білкового, ліпідного і вуглеводного обміну.

Глутамінова кислота є одним із найважливіших елементів проміжного обміну амінокислот, який здійснюється шляхом трансамінування і дезамінування. Трансамінування (переамінування) є зворотною реакцією переносу аміногрупи між амінокислотами і кетокислотами, у результаті чого утворюється глутамінова кислота і кетокислота, відповідна вихідній амінокислоті. Ферменти, які каталізують реакції трансамінування, називаються трансаміназами. Під впливом різних токсикантів активність трансаміназ змінюється – пригнічується або підвищується, що проявляється у багатьох видів риб і свідчить про можливість використання і цього біохімічного показника обміну білків у діагностичних цілях.

Можливі зміни вуглеводного обміну за інтоксикації у риб

Вуглеводи виступають одним із основних джерел енергії, необхідної організму для забезпечення процесів життєдіяльності. Глюкоза і глікоген – енергетичні субстрати, які легко мобілізуються і використовуються організмом як паливо для забезпечення енергією багатьох фізіологічних процесів, що лежать в основі реакцій на екстремальні умови існування. Тому показники вуглеводного обміну, його інтенсивність і спрямованість мають діагностичне значення і при оцінці реакцій-відповідей риб на вплив токсичних речовин.

Як біоіндикатори токсичного ефекту можуть використовуватися зміни вмісту цукру в крові і глікогену в печінці.

Будь-яка реакція-відповідь організму на вплив екстремальних факторів зовнішнього середовища вимагає значних додаткових затрат енергії. Вона супроводжується підвищеними витратами вуглеводів, обумовленими інтенсифікацією окиснювальних процесів у тканинах. Мобілізація глікогену для задоволення зростаючих потреб тканин в глюкозі є нормальним адаптивним процесом організму риб. За тривалої дії стресора, у нашому випадку токсичної речовини, запаси глікогену у печінці виснажуються, кількість цукру у крові падає і розвивається гіпоглікемія, яка супроводжується судомами й іншими симптомами недостатнього забезпечення мозку цукром.

Ще одним проявом порушення вуглеводного обміну у риб є перехід від високоефективного з енергетичної точки зору аеробного розпаду вуглеводів на менш ефективний анаеробний гліколіз, який супроводжується утворенням молочної кислоти.

Безумовним порушенням вуглеводного обміну виступає неспівпадання напрямку вуглеводного обміну з потребами організму, наприклад, переважання глікогензапасаючого характеру обміну у випадку підвищеної потреби тканин у глюкозі.

Основні шляхи вуглеводного обміну і ферменти, які контролюють цей обмін у риб, аналогічні таким у вищих хребетних тварин.

Глюкоза, яка надходить до клітин печінки або м'язів риб, під дією гексокінази піддається фосфорилуванню і перетворюється у глюкозо-6-фосфат з використанням енергії АТФ. Утворений глюкозо-6-фосфат під дією фосфоглюкомутази перебудовується в глюкозо-1-фосфат. Далі за участю глікогенсинтетази синтезується глікоген.

Розпад глікогену відбувається також у печінці або м'язовій тканині з утворенням вільної глюкози, яка надходить у кров. Перший етап розщеплення глікогену каталізується фосфорилазою і закінчується утворенням глюкозо-1-монофосфатного ефіру, далі відбувається перенесення фосфатної групи і утворюється глюкозо-6-монофосфат, який розщеплюється на глюкозу і вільну фосфорну кислоту за допомогою фосфатаз. Висока активність ферментів фосфоролізу має місце в печінці і м'язових тканинах різних видів риб, причому у червоних м'язах вона вище ніж у білих.

Поряд з фосфоролітичним розщепленням глікогену у риб спостерігається і гідролітичне розщеплення, яке також здійснюється у печінці і м'язах з участю амілази, γ -амілази, α -глюкозидази.

Все це свідчить, що ферментативний апарат і гліколітичний ланцюг у риб ідентичний такому у вищих хребетних тварин. Спрямованість потоку метаболітів гліколітичним шляхом у риб

визначається регуляцією рівня активності відповідних ферментів, що обумовлює ту чи іншу кількість вуглеводних запасів в організмі. Висока активність глікогенсинтетази і низька фосфорилази викликає глікогензапасаючий напрям вуглеводного обміну. Зміна глікогензапасаючої спрямованості обміну на глікогенвитратну можлива лише при різкому збільшенні активності фосфорилази і зменшенні активності глікогенсинтетази.

Сигналом для зміни спрямованості вуглеводного обміну у риб виступає зміна факторів зовнішнього середовища (температури, вмісту у воді кисню, солоності) та сезонна динаміка фізіолого-біохімічних процесів.

Сприйняття цих сигналів здійснюється як екстерорецепторами, так і інтерорецепторами. Імпульси, що виникають у рецепторах, надходять до ЦНС, далі вмикаються нейрогормональні механізми, які контролюють активність ферментів ланцюга вуглеводного обміну. Гормональна регуляція вуглеводного обміну у риб аналогічна такій у вищих хребетних тварин. У останніх вона здійснюється за допомогою гормонів підшлункової залози (інсуліну, глюкагону), кори наднирників (кортизону і дезоксикортикостерону), мозкової речовини наднирників (адреналіну), гіпофізу (гормон росту і адренокортикотропний гормон). Одні з них (адреналін, глюкагон, глюкокортикоїди) активують гліколітичні ферменти й інтенсифікують розщеплення глікогену, підвищуючи вміст цукру у крові та задовольняючи зростаючі енергетичні потреби тканин і органів. Інші (інсулін) – активують глікогенсинтезуючі ферменти, посилюючи глікогензапасаючу функцію печінки. У риб адреналін і глюкагон підвищують активність глюкозо-6-фосфатази і фосфорилази; інсулін – пригнічує активність фосфорилази.

За умов хронічного отруєння риб пестицидами і важкими металами активізується глікогензапасаюча функція печінки. Глікоген може синтезуватися безпосередньо із глюкози або із не-вуглеводних попередників, наприклад продуктів катаболізму білків. Взаємозв'язок вуглеводного обміну з білковим і ліпідним контролюється різними гормонами, які стимулюють катаболізм білків або ліпідів і анаболізм вуглеводів. Спрямованість вуглеводного обміну за хронічного отруєння у значній мірі визначається активністю цих гормонів.

Різні за хімічним складом токсиканти викликають активацію гіпофіза і викид у кров'яне русло адренкортикотропних гормонів, які посилюють секрецію кортикостероїдів із інтерреналової залози. Сумісна дія цих гормонів приводить до зниження інтенсивності використання глюкози тканинами і органами і підвищення темпів перетворення продуктів розщеплення білків у глюкозу. У результаті за хронічного отруєння риб відбувається зростання запасів глікогену у печінці і кількості цукру у крові. За гострого отруєння, яке розвивається під впливом високих концентрацій токсикантів, спостерігається зниження вмісту кортизону у крові і збільшення кількості адреналіну, що викликає зменшення запасів глікогену у печінці і короткочасне підвищення вмісту цукру у крові.

Гостре, підгостре і хронічне отруєння риб нафтопродуктами приводить до зниження запасів глікогену у печінці, серці і червоних м'язах.

Саме по собі зменшення запасів глікогену у печінці чи м'язах не є ознакою порушення вуглеводного обміну. Резерв глікогену може бути мобілізованим у випадку екстреної необхідності енергетичного забезпечення реакції-відповіді організму на стресуючий фактор. Масований вплив на організм високих

концентрацій розчинених нафтопродуктів виступає у ролі стресуючого фактора, який вимагає підвищених енергетичних затрат, саме тому резерви глікогену мобілізуються для забезпечення реакції-відповіді на стрес. Це нормальна реакція. Виходячи з цього можна вважати, що показники вуглеводного обміну можуть бути використанні для оцінки токсичності розчинених нафтопродуктів. Цінність глікогенового тесту для встановлення токсичності нафтопродуктів полягає у тому, що він відображує реакцію всього організму, причому як за умов гострого чи підгострого отруєння, так і за хронічної дії малих концентрацій нафтопродуктів.

Особливості ліпідного обміну у отруєних риб

Ліпідний обмін знаходиться у тісному зв'язку з вуглеводним обміном. Ліпіди відіграють роль стратегічного палива. У випадку дефіциту вуглеводів в організмі для покриття енергетичних потреб посилено використовуються жири. При надлишку вуглеводів з них легко утворюються ліпіди. Синтез жирів відбувається за рахунок енергії, яка виділяється при окисненні вуглеводів нормальної інтенсивності, тобто окиснення вуглеводів припиняє посилене розщеплення жирних кислот і сприяє їх ресинтезу.

Ліпіди у поєднанні з білками (ліпопротеїди) є основними структурними елементами біологічних мембран. Ліпідами багаті такі структурні елементи клітин як мітохондрії, де відбувається перебіг ензиматичних реакцій, окиснювальне фосфорилування і синтетичні процеси. Деякі показники ліпідного обміну сьогодні використовуються для характеристики реакції риб на вплив токсичних речовин різної природи з метою оцінки їх фізіологічного стану у забруднених водоймах. У риб, відловлених у зоні інтен-

сивного забруднення, виявляється високий вміст загальних ліпідів у різних органах і тканинах, зокрема у печінці. Однією з причин цього може бути компенсаторне зростання інтенсивності обміну речовин і депонування ліпідів, обумовлене необхідністю локалізації в тканинах ліпідорозчинних амінофенолоподібних сполук, які присутні у стічних водах.

Під впливом забруднень у риб порушується функціонування печінки, змінюється фракційний склад ліпідів. Ці зміни настають задовго до зовнішніх проявів отруєння риб і можуть бути використанні для ранньої діагностики отруєння.

Вплив токсикантів на активність ферментів в організмі риб

Як згадувалося раніше, стан ферментних систем організму риб виступає індикаторним показником фізіологічної норми чи патології в іхтіотоксикології.

Активація ферментних систем, а частіше їх дезактивація є свідченням розвитку патологічних процесів в організмі риб.

Отрутохімікати фосфорорганічної групи викликають токсичну дію на організм риб шляхом інактивації холінестерази, яка здійснює ферментативний гідроліз найважливішого медіатора – ацетилхоліну. Фосфорорганічні сполуки, вступаючи в зв'язок з холінестеразою, позбавляють її здатності розщеплювати ацетилхолін. У результаті цього відбувається накопичення ацетилхоліну і перевантаження холінергічних структур. Зниження активності холінестерази мозку риб відбувається у перші години контакту риб з отрутою ще задовго до летального ефекту. Вираженість токсичного ефекту знаходиться у прямій залежності від концентрації отрути і часу її дії. Летальні концентрації ФОС

викликають більш глибоке пригнічення холінестерази мозку риб, ніж сублетальні. Стійкість багатьох видів риб (плітки, ляща, синця, коропа і т.д.) до дії токсикантів корелює з чутливістю їх ферментів до токсичних речовин. Аналіз стану ферментативної системи використовують не лише для оцінки ступеню токсичності, а й для оцінки рівня забруднення водних екосистем, тобто як для біотестування, так і для біоіндикації. Пригнічення активності холінестерази може бути викликано й іншими токсичними речовинами – фенолами, амонієм, хлорорганічними пестицидами, токсинами синьо-зелених водоростей. Активність холінестерази, тобто ферменту, який характеризує функціональний стан нервової системи, може бути досить чутливим біохімічним індикатором токсичності різних груп речовин, які мають нерво-во-паралітичну дію.

Таким чином, використовувати цей показник для оцінки ступеню забруднення водних екосистем ФОС можна лише поряд з визначенням залишкових кількостей цих пестицидів у тілі риб і у воді, виключивши при цьому можливість наявності інших забруднювачів.

Важливу роль у забезпеченні проникливості біологічних мембран для різних іонів відіграє аденозинтрифосфатаза. Вона здійснює ферментативний гідроліз АТФ, що є найважливішою макроергічною сполукою, та визначає енергетичний режим клітин. Встановлено, що хлорорганічні пестициди, зокрема ДДТ, знижують активність аденозинтрифосфатази, у результаті чого відбуваються зміни у співвідношенні іонів Na^+ , K^+ , Mg^{++} у нервовому волокні, викликані порушенням проникливості клітинних оболонок для цих іонів. Іони ж Na^+ , K^+ , Mg^{++} мають важливе значення для регуляції обміну речовин у клітині. Це дає можливість вважати, що рівень активності аденозинтрифосфатаз мо-

же бути важливим біохімічним показником токсичної дії хлорорганічних пестицидів.

Важливу роль у забезпеченні нормального перебігу обміну речовин за участю вітаміну В₁ (тіаміну) відіграє тіаміназа. Під дією отрут, зокрема токсинів синьо-зелених водоростей, відбувається зростання активності тіамінази, знижується вміст тіаміну, що приводить до розвитку специфічного В₁-авітамінозу з характерним для нього симптомом паралічу з наступною швидкою загибеллю риб.

Тонким індикатором токсичної дії отрут різного походження є стан ензиматичної системи крові. Основна маса ферментів крові утворюється клітинами тканин і надходять до крові у процесі розпаду речовин і вивільнення ферментів. Виявлено три типи змін ферментативного спектру крові:

1 тип – зниження активності постійно присутніх у крові ферментів (гіпоферментемія), яке відображує гіпофункцію вражених органів;

2 тип – підвищення вмісту або активності постійно присутніх у крові ферментів (гіперферментемія), яке відображує підвищення функції органу, або порушення нормального режиму виділення ферментів із-за патологічної проникливості;

3 тип – поява в крові ферментів, які за нормального стану організму відсутні.

Дослідження ферментативних спектрів крові є перспективним напрямком діагностики в іхтіотоксикології. У багатьох випадках перераховані порушення носять чітко специфічний характер, їх встановлення є вирішальним підтвердженням клінічного діагнозу, а дослідження в динаміці – цінним біотестом.

Біохімічні механізми трансформації токсикантів

Будь-який живий організм має захисні біохімічні механізми, які забезпечують йому захист від згубної дії токсичних речовин. Відомо, що з чужорідними сполуками (ксенобіотиками), які надходять до організму ссавців, відбуваються складні зміни, перебіг яких здійснюється в два етапи.

На першому етапі відбуваються метаболічні перетворення (окиснення, відновлення, гідроліз і т.д.), які ведуть до появи у молекулі ксенобіотику нових функціональних груп. Останні підвищують полярність молекули, у результаті чого токсичність речовини може бути або ослаблена, або посилена.

Біотрансформація ксенобіотиків каталізується ферментами, локалізованими у мікросомальній фракції клітин печінки.

Риби також мають всі ферменти, необхідні для метаболізму ліпідорозчинних ксенобіотиків, а реакції, які каталізуються цими ферментами, аналогічні таким у вищих хребетних тварин. Існує ще одна принципова схожість між рибами і ссавцями у формуванні реакції-відповіді на вплив токсичних речовин. Ксенобіотики, надходячи до організму риб, здатні індукувати утворення ферментів, які каталізують метаболічні перетворення чужорідних сполук.

Продукти метаболічних перетворень, які каталізуються мікросомальними ферментами печінки, можуть виділятися організмом без будь-яких змін, вступати у синтетичні реакції кон'югації, піддаватися метаболізму за допомогою нормальних процесів проміжного обміну або акумулюватися в тканинах. Реакцію кон'югації розглядають як детоксикацію різних отрут. Це є другим етапом метаболічних перетворень ксенобіотиків з токсичними властивостями.

Кон'югація являє собою біосинтез, при якому чужорідні речовини, або їх метаболіти з'єднуються з легкодоступними сполуками-субстратами, утворюючи кон'югати. Субстратами можуть бути глюкуронова кислота, гліцин, сульфат-іон, ацетил-іон, метил-іон.

Кон'югація здійснюється шляхом приєднання чужорідної сполуки (наприклад, гідроксильної, амінної, карбоксильної, епоксидної, або атому галогену) до функціональної групи субстрату. Новоутворена молекула є більш полярною, менш ліпідорозчинною і досить легко виділяється з організму тварин.

Як і метаболічні перетворення, реакції синтезу і кон'югації відбуваються за участю специфічних ферментів.

Найбільш важливим механізмом детоксикації багатьох ксенобіотиків вважають глюкуронову кон'югацію, тобто з'єднання чужорідних сполук з глюкуроною кислотою, джерелом якої є активована за участю АТФ глюкоза або її попередники.

Частково детоксикаційний характер має механізм осморегуляції. При адаптації риб до змін осмотичного тиску водного середовища відбувається екскреція деяких іонів. Перебіг осмотичних процесів у прісноводних і морських риб здійснюється по-різному. В нормі прісноводні костисті риби знаходяться у середовищі, гіпотонічному по відношенню до рідин їхніх організмів, тому природні процеси спрямовані на обводненість організму і його обезсолювання. У зв'язку з цим робота органів осморегуляції у них спрямована на утримання в організмі солей і видалення з нього води. Основна роль у цих процесах належить ниркам, через які відбувається виведення разом з водою певної кількості електролітів, хоча за проходження сечі через ниркові каналіці значна частина іонів, особливо Na^+ , Cl^- , K^+ , реабсорбу-

ється. Через нирки виділяється основна кількість і двохвалентних іонів. У морських костистих риб тіло обезвожується у результаті дифузії води в зовнішнє середовище через зяброву поверхню. З метою компенсації втрат води ці риби п'ють морську воду, що обумовлює надходження до їхнього організму значної кількості натрію, калію, хлору, магнію, кальцію, сульфат-іонів. Осморегуляторні процеси морських риб спрямовані на виведення цих іонів з організму. Нирки морських костистих риб виділяють двовалентні катіони кальцію і магнію та аніони сульфату і фосфату. Основні осмотики їх внутрішнього середовища – натрій і хлор, - виводяться у зовнішнє середовище хлоридсекретуючими клітинами зябер.

Відмічені осморегуляторні механізми забезпечують підтримання постійного осмотичного тиску в нормі в клітинах прісноводних і морських риб.

Для забезпечення відповідного рівня перебігу метаболічних процесів водних організмів в їх органах і тканинах в нормальному стані заходиться біля 13 біоелементів, зосереджених у структурі ферментів. Біологічна роль цих макро- і мікроелементів полягає в активації чи інгібуванні певних ферментативних систем. Біоелементи викликають позитивну дію на організм лише в біотичних дозах або концентраціях. При високих концентраціях більшість з них стає токсичними, що приводить до функціональних порушень або деформацій, у кінцевому результаті – до загибелі риб.

Біологічна відповідь тканин організму на збільшення концентрації іонів, які надходять у достатній кількості за їх необхідності виражається негайною позитивною реакцією. При цьому припускається, що елементи, які надійшли в організм насичують місця свого зв'язування і не вступають ні в які інші можливі

взаємодії. Оптимальний рівень цих елементів, найчастіше це метали, охоплює досить широкий інтервал концентрацій. Позитивний ефект збільшення концентрацій іонів металів проходить через максимум і починає падати до від'ємних величин. Біологічна відповідь організму стає негативною, а метал переходить у розряд токсичних речовин. Біологічна відповідь на токсичний метал, який не проявляє ефекту стимулюючої дії, формується з деяким запізненням, що свідчить про те, що живий організм деякий час мириться з невисокими (підпороговими) концентраціями токсичної речовини, доки не почне переважати його токсична дія. Це вказує на те, що необхідні для організму речовини можуть стати токсичними, якщо вони надходять до організму у надлишку. Майже кожна речовина в надлишку неминуче стає токсичною.

Детальними дослідженнями біологічної відповіді організмів на основі фізіологічних процесів гідробіонтів під впливом хімічних реагентів встановлені наступні концентрації останніх:

- 1) ті, що включаються в обмінні процеси як необхідні елементи для підтримання обміну речовин і життєдіяльності організмів – концентрація забезпечення;
- 2) ті, які прискорюють перебіг фізіологічних процесів (розвиток, ріст, дозрівання), але не погіршують життєздатності організму і забезпечують формування популяції – концентрації стимуляції;
- 3) близькі до ізотонії, або ті, які викликають захисну реакцію організму проти вимушеного накопичення чужорідних речовин й іонів; зміни рівня обміну речовин носять кількісний характер і відбуваються у межах адаптивних можливостей виду – концентрація адаптивної валентності, або ізотонії;

- 4) ті, які викликають різке підвищення газообміну, обумовлене необхідністю виведення із організму непотрібних речовин, і приводять до гранично високих витрат енергії для захисту життєвих функцій організму; при цьому життєздатність організму зберігається лише обмежений час – концентрація захисної реакції;
- 5) ті, які викликають пригнічення пластичного обміну при відносно високому енергетичному, необхідному для виживання особин; формування популяцій неможливе – концентрація пригнічення;
- 6) пригнічуючі всі фізіологічні процеси внаслідок надмірного нагромадження в організмі реагенту, який затримує розвиток, ріст і викликає підвищену загибель особин за інших сприятливих умов середовища – летальні концентрації.

Перші три категорії концентрацій речовин викликають реакції організму у межах його адаптивних можливостей. Останні три категорії концентрацій речовин є толерантними і базуються на пластичності функціонування водних організмів.

Організм тварин, у тому числі і риб, підтримує концентрацію речовин в оптимальному інтервалі за допомогою комплексу фізіологічних процесів, який має назву гомеостазу. Концентрація всіх без виключення необхідних організму іонів, у тому числі і металів, знаходиться під контролем гомеостазу.

За надходження до організму надлишкової кількості біоелементів, які за своїми хімічними і біологічними властивостями подібні з властивостями інших життєво необхідних елементів, вмикаються відповідні гомеостатичні механізми специфічного і неспецифічного регулювання, спрямовані на виведення або де-

токсикацію речовин, а в окремих випадках – на усунення її токсичної дії.

Розглянемо більш конкретно ці гомеостатичні механізми по відношенню до вмісту металів. Гомеостаз металів у гідробіонтів, як і у вищих хребетних тварин, здійснюється на різних рівнях організації – на рівні біологічного класу, виду, в окремих популяціях, на органному, тканинному, клітинному, субклітинному і молекулярному рівнях. На різних рівнях організації працюють специфічні механізми підтримання гомеостазу. Механізми, які регулюють надходження і рівень вмісту хімічних елементів в організмі риб, виробилися у процесі еволюції. По мірі ускладнення біологічної системи, починаючи від молекулярного і субклітинного рівня до клітинного, тканинного і т.д., кількість гомеостатичних регулюючих систем в організмі зростає і їх дія накладається одна на одну. Так, вміст металів у м'язових тканинах риб залежить з одного боку – від шляхів їх надходження до організму, від особливостей живлення, від специфіки метаболізму в цілому; з другого боку – регулюється перерозподілом металів між органами і тканинами організму. Ці дві системи можуть бути незалежними одна від одної, або ж можуть посилювати чи послаблювати дії одна одної. Міжтканинний і міжорганний перерозподіл хімічних сполук в організмі риб відіграє важливе значення на початкових етапах адаптації риб до підвищеного вмісту важких металів у воді чи в їжі. Здійснення процесів розподілу важких металів у плазмі крові, кишечнику, міжклітинній рідині, а також накопичення їх в органах і тканинах, де вони можуть бути іммобілізованими, забезпечує утримання позаклітинного середовища від значних коливань іонного складу води. Це підтверджується експериментальними даними, які показують, що зі збільшенням концентрації кальцію у воді відбувається фазове зрос-

тання його вмісту у позаклітинних структурах печінки і залозистого апарату зябер коропів.

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Вкажіть, яке значення для ранньої діагностики отруєння риб має вивчення біохімічних механізмів токсичної дії різних груп отрут
2. Вкажіть, які зміни відбуваються у білковому обміні риб за дії на них токсичних речовин
3. Вкажіть, як змінюється амінокислотний склад тканин і органів отруєних токсичними речовинами риб
4. Вкажіть, які зміни можливі у вуглеводному обміні риб за інтоксикації
5. Охарактеризуйте особливості ліпідного обміну у отруєних токсикантами риб
6. Вкажіть, як діють токсичні забрудники водного середовища на активність ферментативних систем риб
7. Розкрийте суть поняття індуковані токсичними речовинами ферменти у риб
8. Розкрийте індикаторне значення ферментативних систем крові риб для діагностування їх отруєння
9. Вкажіть типи змін ферментативного спектру крові риб за дії на них отрут
10. Охарактеризуйте біохімічні механізми трансформації токсикантів в організмі риб

ТЕМА 7. Діагностика отруєння риб

Одним із основних напрямів сучасних іхтіотоксикологічних досліджень є діагностика отруєння риб токсичними речовинами різного походження для встановлення причин їх масової загибелі у природних і штучних водоймах. Це часто пов'язано з необхідністю вирішення питань про правову та фінансову відповідальність організацій, підприємств чи окремих осіб, які винні у забрудненні водного середовища стічними водами.

Для діагностики отруєння риб токсикантами різного походження застосовують клінічні методи дослідження, які покликані встановити симптоми і симптомокомплекси отруєння риб.

Симптомами отруєння риб токсичними речовинами називають неспецифічні і специфічні зміни поведінкових реакцій, наявність зовнішніх ушкоджень чи ушкоджень внутрішніх органів, які можуть свідчити про забруднення водойм і вплив на організм риб токсичних речовин.

Симптомокомплексом отруєння риб певною токсичною речовиною називають сукупність усіх патологічних зсувів в їхньому організмі за надходження до нього даного токсиканта.

Детальна характеристика симптомів отруєння і їх повний перелік використовуються для індикації забруднення водойм токсичними речовинами та розвитку токсичного процесу в організмі риб. Знання симптомів отруєння необхідне для уніфікації показників токсичної дії тієї чи іншої речовини при проведенні досліджень різними дослідниками у різних умовах.

Клінічні дослідження проводять за такою загальною схемою:

1. Оцінка масштабів загибелі риби у водному об'єкті: встановлюють кількість загиблої риби, її видовий і віковий склад, по можливості стать.
2. Оцінка екологічної ситуації на водоймі, виявлення можливих джерел забруднення. Обстежують водойму і берегову лінію на предмет розташування та стан промислових об'єктів на території водозабору і вздовж берегової лінії, визначають ксенобіотичний профіль території, фізичні – колір, запах, смак, каламутність, прозорість, в деяких випадках – рівень флюоресценції та гідрохімічні, в першу чергу, рН водного середовища, вміст розчиненого кисню, вуглекислого газу, наявність сірководню, аміаку, метану, пріоритетні токсиканти за експрес-тестами, – показники якості води.
3. Спостереження за станом агонізуючої риби, вивчення поведінкових реакцій отруєної риби. Зовнішні прояви дії токсикантів на організм риби досить різноманітні, але сукупність реакцій стереотипно відтворюється при дії різних концентрацій однієї і тієї ж отрути. Вивчення особливостей поведінки риби у токсичних розчинах, які містять різні компоненти промислових стічних вод, необхідне для встановлення картини розвитку токсичного ефекту у водному середовищі та в організмі риби.

За цих досліджень необхідно оцінити наступне:

- а) стан риби – спокою чи збудження, наявність чи відсутність судом і конвульсій;
- б) частоту і ритм дихання за характером і частотою руху зябрових кришок;
- в) рухову активність (рівень рухової активності – стрімке плавання, безладне стрімке плавання, в'яле утруднене плавання, вертіж навколо своєї осі і т.д.);

г) наявність чи відсутність судом щелеп, плавців, хвоста (частоту судом);

д) стан асфіксії, що виражається у захопленні повітря ротом біля поверхні води, стрибках із води, «свічках»;

е) положення тіла риб – у товщі води, біля поверхні, на дні, на боку, на спині, вгору черевцем, вгору хвостом і т.д.

Певна сукупність поведінкових реакцій є специфічним симптомом комплексом отруєння риб резорбтивними отрутами нервово-паралітичної дії. Для перебігу токсичного процесу при отруєнні риб цією групою отрут характерна фазовість. Фази слідує одна за одною у наступному порядку:

1 – *занепокоєння і розлад чутливості* – риба веде себе неспокоїно, широко розкриває рот або міцно стискує щелепи, розправляє плавці, зростає частота дихальних рухів, можливе порушення ритму дихання, при підвищеній чутливості відмічається стрімке плавання без певного напрямку, гіперреакція на подразнення; при пониженій чутливості – риба не реагує на подразнення, пасивно рухається з потоком води;

2 – *розлад і повна втрата рівноваги* – спостерігається тимчасове завалювання на бік або на спину, сильно напружуються плавці, можливі судомні мускулів з однієї сторони тіла внаслідок чого відмічається вигин тіла, в кінці цієї фази риба повністю втрачає рівновагу і здатність рухатися (атаксія), не усвідомлює свого положення у товщі води;

3 – *агонія і трупне залякнення* – повна втрата рівноваги і рухомості супроводжується блокуванням дихання і смертю; повним затвердінням тіла і всіх плавців, на поверхні тіла утворюються трупні плями із-за порушення руху хроматофорів.

Стереотипне відтворення трифазової фенольної інтоксикації при отруєнні різних видів риб характерне і для інших отрут органічної природи, зокрема пестицидів (ендрин, токсафен).

Тривалість окремих фаз у часі за різних концентрацій отрут і співвідношення окремих фаз між собою досить сильно варіюють. Тривалість і ступінь вираження окремих фаз залежать від видових особливостей піддослідних риб. У мирних риб – карась, лящ, плітка, синець – фази інтоксикації більш тривалі, ніж у хижих – щука, і напівхижих – йорж, окунь, форель. Відмінні від інших поведінкові реакції характерні для минька і сома. Специфіка їх полягає в конвульсивних посмикуваннях м'язів тулуба за нерухомого стану риби. Лише інколи у цих видів спостерігається помітне підвищення рухової активності, яка супроводжується стрімкими кидками.

Деякі отрути викликають вузько специфічні поведінкові реакції у риби. Так ознакою отруєння риби неорганічними кислотами є повільний рух риби по колу. За отруєння лугами спостерігається ще й підвищення частоти дихання. Отруєння лужними і лужноземельними металами та їх солями супроводжується коловими а потім стрімкими кидкоподібними рухами. Важкі метали і їх солі викликають тривале занепокоєння і швидку втрату рівноваги із завалюванням на бік. Сполуки фтору і хлору спричиняють сильне занепокоєння і вертіж навколо своєї осі. Аміак і солі амонію викликають незначне збудження, а потім інтенсивні судоми, риби рухаються кидками, вистрибують із води, плавці віялоподібно розкриваються. Гине риба з широко розкритими зябровими кришками і ротом. Від сильних судом виникає кровотеча із зябер. Ціаніди спричиняють підвищення частоти і глибини дихання, блокування дихальних ферментів, внаслідок чого настає асфіксія. За отруєння сечовиною риби спокійні, дихання

сповільнено. У подальшому внаслідок розщеплення сечовини утворюється аміак і виникають симптоми аміачного отруєння.

Для повної діагностики і чіткого встановлення діагнозу отруєння вивчення тільки поведінкових реакцій у риб недостатньо. Необхідне додаткове дослідження характеру зовнішніх і внутрішніх ушкоджень.

4. Патолого-морфологічне обстеження – зовнішній огляд снулої і загиблої риби: визначення маси тіла, довжини та вгодованості риб; стан зовнішніх покривів – відлягання луски, крововиливи, пігментні плями, зміна забарвлення шкіри, ступінь враження екзопаразитами; стан плавців; стан очей – екзофтальмія, пігментація, забарвлення рогівки; стан зябер – забарвлення, кровонаповнення, стан зябрових пелюсток – відшарування респіраторного епітелію, забарвлення.
5. Патолого-анатомічний розтин загиблої риби і детальне обстеження внутрішніх органів.

Результати патолого-анатомічного і гістопатологічного дослідження необхідні для встановлення заключного діагнозу щодо отруєння риб тим чи іншим токсикантом. Зміни у структурі внутрішніх органів та тканин часто виступають більш чутливими індикаторними ознаками отруєння. Патолого-анатомічне дослідження і обстеження внутрішніх органів риб проводять наступним чином: розкривають черевну порожнину, проводячи кінчиками ножиців від анального отвору у напрямку до ротового отвору; послідовно оглядають скелетну мускулатуру, черевну порожнину, шлунок і кишечник, печінку, селезінку, нирки, статеві залози (яєчники чи сім'яники), жирову тканину, плавальний міхур, серце. Для скелетної мускулатури відмічають її колір, консистенцію, наявність чи відсутність крововиливів, ступінь прикріплення до кісток (щільне прилягання, часткове чи повне відс-

тавання від кісток). Для черевної порожнини відмічають наявність транссудату, його кількість, колір, запах, топографічне положення органів, стан внутрішнього жиру. Шлунок і кишечник розкривають після зовнішнього огляду і фіксують ступінь наповнення харчовою масою, наявність слизу, стан слизової оболонки – колір, товщина, крововиливи, наявність паразитів. Для серця реєструють наявність крововиливів і згустків крові. Для проведення дослідження головного мозку здійснюють три розрізи черепної коробки: один поперечний – по задньому краю потиличної кістки і два поздовжніх в напрямку до носових отворів. Розглядають окремо великі півкулі, проміжний і довгастих мозок, відмічаючи їх консистенцію, крововиливи, ступінь наповнення судин, колір.

Найбільш показовим органом за патолого-анатомічного розтину є печінка, оскільки вона виконує роль буферної зони і акумулює різні хімічні речовини, а тому найбільше потерпає від їх руйнівної дії. Її забарвлення, консистенція, ступінь розпаду, розміри, некротичні зміни безумовно свідчать про ту чи іншу патологію, пов'язану з отруєнням, особливо з хронічним отруєнням. Аналогічні зміни, але в меншій мірі, виявляються і в селезінці та нирках.

У статевозрілих риб важливе діагностичне значення має стан статевих залоз. При неможливості нересту в силу тих чи інших причин статеві продукти (молоки й ікра) можуть резорбуватися, що є додатковою причиною загибелі плідників.

Крововиливи у серцеві м'язи, печінку, нирки і довгастих мозок є свідченням гострого патологічного процесу.

Ступінь враження різних органів і тканин риб окремими токсикантами різна. Структура одних органів (зябра, нирки, печінка) у отруєних риб носить більш суттєві зміни, ніж структура ін-

ших (поперечно-посмуговані м'язи, серце, мозок). Найбільш глибокі зміни відмічаються в органах, які стоять на шляху циркуляції токсикантів, наприклад, зябрах, печінці, нирках. Вони першими потрапляють під дію токсикантів, які порушують структуру цих життєво важливих органів дихання і виділення. Слід відмітити, що характер враження серця і нирок за різних токсикозів не може бути надійною основою для диференційованої діагностики отруєння риби тими чи іншими токсикантами. У цих випадках патоморфологічні зміни у органах і їх тканинах не мають вирішального значення для діагностики. Необхідно застосовувати інші додаткові характерні індикаторні ознаки.

Слід звернути увагу на такий порівняно новий феномен, як пухлини у риб, особливо у печінці та нирках. Вони виникають за хронічної дії нафтопродуктів, пестицидів, важких металів. Найбільшу ж небезпеку як канцерогени являють поліциклічні ароматичні вуглеводні (ПАВ). Частота виявлення пухлин у риб весь час зростає. Особливо суттєвим є те, що частота виявлення пухлин у риб корелює з частотою виявлення пухлин у місцевого населення, тобто пухлини у риб є прогностичним дзеркалом канцерогенної ситуації у популяціях людського населення, а тому необхідне якомога більш детальне вивчення їх походження й етіології.

6. Досить часто, особливо коли на водоймах була виявлена вже лише загибла риба і не було змоги відслідкувати поведінкові реакції для встановлення остаточного діагнозу отруєння риб і складання актів екологічної експертизи причин масової загибелі риб, звертаються до моделювання ситуації на водоймі у лабораторних умовах шляхом проведення слідчого експерименту. Здорову рибу розміщують в акваріумах з водою із водойми, де спостерігалася масова загибель риб,

чи зі стічними водами (середньодобова проба, різні розведення середньодобової проби) із можливого джерела забруднення і спостерігають за зміною поведінкових реакцій, зовнішніми і внутрішніми ознаками отруєння.

Дуже часто за симптомокомплексом отруєння можна скласти попередню уяву про групу речовин, які викликали загибель риб, справедливості якої необхідно перевірити в експериментальних умовах. Ідентифікація картини отруєння за експериментальних умов з картиною загибелі риб в природних водоймах може бути вирішальним доказом у визначенні підприємства, стічні води якого викликали масове отруєння риби. Іхтіотоксикологічний експеримент такого роду має особливе значення, якщо до рибогосподарської водойми-приймальника скидаються стічні води декількох підприємств. Доцільність проведення такого експерименту базується на відомому положенні про те, що в суміші отрут загальну картину отруєння визначає найбільш токсичний компонент (особливо у випадку гострого отруєння риби).

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Дайте визначення симптомів і симптомокомплексів отруєння риби токсичними речовинами
2. Вкажіть, що собою являють клінічні дослідження причин масової загибелі риби
3. Вкажіть основні етапи клінічних досліджень отруєння риби токсичними речовинами
4. Охарактеризуйте основні етапи клінічних досліджень отруєння риби токсичними речовинами
5. Вкажіть, яке значення має дослідження поведінкових реакцій риби для діагностики їх отруєння

6. Вкажіть, які поведінкові реакції риб мають діагностичне значення для встановлення причин отруєння
7. Вкажіть, що являє собою загальний адаптаційний синдром у риб і яке його значення для діагностики отруєння риб токсикантами
8. Розкрийте роль патолого-морфологічного обстеження отруєних риб для встановлення причин їх загибелі
9. Розкажіть, як провести патолого-атомічне обстеження отруєних риб
10. Вкажіть, для чого і коли необхідне моделювання токсичних процесів у водоймах в лабораторних умовах

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ І РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Алимов А.Ф.** Элементы теории функционирования водных экосистем / А.Ф.Алимов – СПб.:Наука, 2000. – 148 с.
2. **Альберт Э.** Избирательная токсичность / Э.Альберт – М.:Мир, 1971. – 431 с.
3. **Аршаница Н.М.** Токсикозы рыб с основами патологии: Справочная книга / Н.М.Аршаница, М.А.Перевозников. – С.-П.: ГОСНИОРХ, 2006. – 180 с.
4. **Аршаница Н.М.** Токсикозы рыб в естественных водоемах и аквакультуре / Н.М.Аршаница, О.А.Ляшенко // Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК»: материалы международной научно-практ.конф. (17-19 декабря 2007 г., г. Москва). – М., 2007. – С. 376-379.
5. **Беспалова Л.Е.** Водна токсикологія: навчальний посібник / Л.Е.Беспалова, В.В.Оліфіренко, А.В.Рачковський – Херсон: ВЦ «Колос», 2011. – 131 с.
6. **Болдырев А.А.** Биологические мембраны и транспорт ионов / А.А.Болдырев – М.: Изд-во Моск.ун-та, 1985. – 208 с.
7. **Брагинский Л.П.** Экологические подходы к исследованию механизмов действия токсикантов в водной среде / Л.П.Брагинский // Формирование и контроль качества поверхностных вод. - К.:Наукова думка, 1975. - Вып.1. – С.5-15.
8. **Брагинский Л.П.** Экологическая экспертиза причин массовой гибели рыб / Л.П.Брагинский, О.Н.Давыдов – К.: ИЗ НАН Украины, 1996. – 128 с.

9. **Бурдин К.С.** Основы биологического мониторинга / К.С.Бурдин. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. – 158 с.
10. **Гандзюра В.П.** Концепція шкочочинності в екології / В.П.Гандзюра, В.В.Грубінко – Київ-Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. В.Гнатюка, 2008. – 144 с.
11. **Голиков С.Н.** Общие механизмы токсического действия / С.Н.Голиков, И.В.Саноцкий, Л.А.Тиунов. – Л.: Медицина, 1986. – 280с.
12. **Головенко Н.Я.** Сравнительная биохимия чужеродных соединений / Н.Я.Головенко, Т.Л.Карасева. – К.: Наукова думка, 1983. – 199 с.
13. **Гусев А.Г.** Состояние и перспективы научно-исследовательских работ по проблеме охраны рыбохозяйственных водоемов от загрязнения / А.Г.Гусев // Вопросы водной токсикологии. – М.: Наука, 1970. – С.24-33.
14. **Дудник С.В.** Водна токсикологія: основні теоретичні положення та їхнє практичне використання / С.В.Дудник, М.Ю.Євтушенко. – К.: Вид-во Укр. фітосоціологічного центру, 2013. – 295 с.
15. **Ершов Ю.А.** Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю.А.Ершов, Т.В.Плетнева – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
16. **Євтушенко М.Ю.** Токсикологічні проблеми Шацьких озер / М.Ю.Євтушенко, С.В.Дудник, Ю.А.Глебова // Наукові доповіді НУБіП України, 2010. - №6 (22) – 15 с.
17. **Евтушенко Н.Ю.** Механизмы поступления, распределения и выведения металлов из организма рыб (обзор) / Н.Ю.Евтушенко, С.В.Дудник // Гидробиологический журнал, 2014. - №4 (298). Том 50. – С.63-78.

18. **Израэль Ю.А.** Антропогенная экология океана / Ю.А.Израэль, А.В.Цыбань – Л.: Гидрометеиздат, 1989. – 528 с.
19. **Камшилов М.М.** Норма и патология в функционировании водных экосистем / М.М.Камшилов // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. – М.: Наука, 1983. – С.22-26.
20. **Карпюк М.И.** Теория биосорбции водных животных (научные основы и практическое использование) / М.И.Карпюк, И.А.Зубченко, А.Ф.Сокольский – Астрахань, 2002. – 333 с.
21. **Крамаренко В.Ф.** Токсикологическая химия / В.Ф.Крамаренко – К.: «Вища школа», 1989. – 448 с.
22. **Кустов В.В.** Комбинированное действие промышленных ядов / В.В.Кустов, Л.А.Тиунов, Г.А.Васильев – М.: Медицина, 1975.– 184 с.
23. **Куценко С.А.** Основы токсикологии / С.А.Куценко – Санкт-Петербург, 2002. – 395 с.
24. **Лукьяненко В.И.** Токсикология рыб / В.И.Лукьяненко – М.: «Пищевая промышленность», 1967. – 216 с.
25. **Лукьяненко В.И.** Общая ихтиотоксикология / В.И.Лукьяненко – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 320 с.
26. **Лукьяненко В.И.** Теоретические вопросы биотестирования / В.И.Лукьяненко – Волгоград, 1983. – 195 с.
27. **Лукьяненко В.И.** Принципы и методы ихтиотоксикологических исследований / В.И.Лукьяненко // Методы ихтиотоксикологических исследований: тезисы докладов Первого Всесоюзного симпозиума по методам ихтиотоксикологических исследований (Ленинград, октябрь 1987 г.). – Л., 1987. – С.87-89.

28. **Метелев В.В.** Водная токсикология / В.В.Метелев, А.И.Канаев, Н.Г.Дзасохова. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
29. **Моисеенко Т.И.** Водная экотоксикология: Теоретические и прикладные аспекты / Т.И.Моисеенко. – М.: Наука, 2009. – 400 с.
30. **Москалев Ю.И.** Минеральный обмен / Ю.И.Москалев – М.: Медицина, 1985. – 288 с.
31. **Наточин Ю.В.** Проблемы эволюционной физиологии водно-солевого обмена / Ю.В.Наточин – Л.: Наука, 1984. – 40 с.
32. **Наточин Ю.В.** Изменение концентрации электролитов в сыворотке крови рыб как показатель ихтиотоксичности / Ю.В.Наточин // Методы ихтиотоксикологических исследований: тезисы докладов Первого Всесоюзного симпозиума по методам ихтиотоксикологических исследований (Ленинград, октябрь 1987 г.). – Л., 1987. – С. 105-106.
33. **Оксигендлер Г.И.** Яды и организм. – СПб.: Наука, 1991. – 320 с.
34. **Патин С.А.** Биологические и рыбохозяйственные аспекты проблемы охраны водоемов от загрязнения / С.А.Патин // Биогеохимические и токсикологические исследования водоемов: сборник научных трудов ВНИРО. – 1984. – С. 3-8.
35. **Покровский А.А.** Метаболические аспекты фармакологии и токсикологии пищи / А.А.Покровский – М: Медицина, 1979. – 227 с.
36. **Правдин Н.С.** Руководство по промышленной токсикологии / Н.С.Правдин – М.-Л.: Биомедгиз, 1934. – 259 с.
37. **Превращение** канцерогенных и токсических веществ в гидросфере / У.Э.Кирсо, Д.И.Стом, Л.И.Белых и др. – Таллинн: Валгус, 1988. – 271 с.

38. **Романенко В.Д.** Основы гидроэкологии / В.Д.Романенко - К.: Обереги, 2001. – 726 с.
39. **Серков В.М.** Структурные и функциональные особенности хлоридных клеток жаберного эпителия дальневосточной красноперки *Trybolodon brandti* (сем. *Cyprinidae*), адаптированных к воде различной солености / В.М.Серков, М.С.Корниенко // Научные труды I Съезда физиологов стран СНГ. Сочи, Дагомыс (18–23 сентября 2005 г.). – М.: Медицина-здоровье, 2005. – С. 97.
40. **Сорвачев К.Ф.** Норма и патология на молекулярном уровне / К.Ф.Сорвачев // Теоретические проблемы водной токсикологии: Норма и патология. – М.: Наука, 1983. – С.121-131.
41. **Строганов Н.С.** Новые пути решения проблемы действия сточных промышленных вод на водные организмы / Н.С.Строганов – М.: МГУ, 1941. – 164 с.
42. **Строганов Н.С.** Действие сточных промышленных вод на водные организмы / Н.С.Строганов, А.Т.Пажитков – М.: МГУ, 1941. – 88 с.
43. **Строганов Н.С.** Проблемы водной токсикологии в свете экологической физиологии / Н.С.Строганов // Гидробиол.журнал, 1967. – Т.3, №5. – С.234-241.
44. **Суцня Л.М.** Актуальные проблемы экологии водных животных / Л.М.Суцня, А.Ф.Алимов, А.В.Монаков // Теоретические проблемы водной токсикологии. – М., 1982. – Т.18, №6. – С.63-72.
45. **Трахтенберг И.М.** Книга о ядах и отравлениях / И.М.Трахтенберг – Киев: Наукова думка, 2000. – 368 с.
46. **Трошин А.С.** Распределение веществ между клеткой и средой / А.С.Трошин – Л.,1985. – 191 с.

47. **Филенко О.Ф.** Основы водной токсикологии / О.Ф.Филенко, И.В.Михеева – М.: Колос, 2007. – 144 с.
48. **Флеров Б.А.** Механизмы приспособления водных животных к токсическим веществам / Б.А.Флеров // Реакция гидробионтов на загрязнение. – М.: Наука, 1983. – С.30-33.
49. **Флеров Б.А.** Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных / Б.А.Флеров – Л.: Наука, 1989. – 144 с.
50. **Хайлов К.М.** Включение растворенных органических метаболитов в питание животных / К.М.Хайлов, В.А.Вайчулис // Биохимическая трофодинамика в морских прибрежных экосистемах. – К.:Наукова думка, 1974. – С.66-93.
51. **Харитонов Н.Н.** Биологические основы интенсификации прудового рыбоводства / Н.Н.Харитонов – К.: Наукова думка, 1984.– 196 с.
52. **Шестерин И.С.** Вещества аутогенного происхождения в прудах и их комбинированное влияние на рыб / И.С.Шестерин – Болезни рыб и водная токсикология. – М., 1981. – Вып.32. – С.146-157.
53. **Шестерин И.С.** Экологические (аутогенные) токсикозы прудовых рыб / И.С.Шестерин // Сборник научных трудов Всесоюзного научно-исследовательского института прудового рыбного хозяйства. - 1984. - Вып. 40. - С.171-176.
54. **Шульман Г.Е.** Экологическая физиология и биохимия черноморских гидробионтов в начале XXI века / Г.Е.Шульман // Экология моря, 2001. – Вып. 57. – С.121-125.

ПРИКЛАДИ ТЕСТОВИХ ЗАВДАНЬ

1. Назвіть розділ водної токсикології, який вивчає вплив токсичних речовин на організми риб та процеси їхньої життєдіяльності:

2. Вкажіть практичне значення розділу водної токсикології, який вивчає вплив токсичних речовин на риб:

1	розробка меліоративних заходів
2	нормування рівня забруднення рибогосподарських водойм
3	підвищення рибопродуктивності водойм
4	виведення нових порід господарсько цінних видів риб
5	нормування якості води шляхом біотестування

3. Вкажіть два основних напрямки досліджень розділу водної токсикології, який вивчає вплив токсичних речовин на організм риб:

1.
2.

4. Розставте у відповідності до назв визначення:

А. Порогові концентрації токсичних речовин	1. Ті, які не викликають жодних патологічних змін у жодній функціональній системі організму
Б. Ефективні концентрації токсичних речовин	2. Ті, які викликають тимчасові патологічні зміни у функціональних системах організму
В. Летальні концентрації токсичних речовин	3. Ті, які викликають незворотні патологічні зміни у функціональних системах організму
Г. Гранично допустимі концентрації	4. Ті, які викликають загибель організму

5. Дайте визначення поняттю «норма» в токсикології:

6. Підберіть визначення для поняття «біологічна норма» в токсикологічних дослідженнях:

1	відповідність умовам існування, що забезпечує виживання і відтворення виду
2	дезорганізація ферментних систем
3	активація ферментних систем
4	порушення збалансованості метаболічних процесів

7. Вкажіть біологічні патології, які виникають в організмі риб під впливом токсикантів:

1	резорбція ікри
2	прискорення розвитку личинок риб
3	підвищення інтенсивності росту риб
4	прискорення дозрівання особин

8. Дайте визначення поняттю «патологія» в токсикології:

9. Розставте у відповідності до назв визначення:

A. Біологічна норма	1. Хвороба, відхилення від оптимального стану
B. Фізіологічна норма	2. Відповідність умовам існування, що забезпечує виживання і відтворення виду
C. Біохімічна норма	3. Узгодження обмінних процесів з потребами організму
D. Патологія	4. Забезпечення необхідного рівня активності відповідних ферментних систем

10. Вкажіть показник функціонального стану організму риб, який найбільш чутливо реагує на дію токсичних речовин:

1	гострота зору
2	приріст живої маси
3	відмирання клітин
4	виживання особин

11. Розташуйте послідовно етапи розвитку загального адаптаційного синдрому у риб до дії отруту:

1	A. Виснаження
2	B. Реакція тривоги
3	B. Підвищення резистентності

12. Вкажіть послідовність фаз розвитку реакції-відповіді риб на ушкоджуючий вплив токсикантів:

1	A. Критична фаза
2	B. Фаза повної компенсації
3	B. Безкомпенсаційна фаза
4	Г. Фаза неповної компенсації

13. Назвіть стан організму риб за теорією Г. Сельє, коли спостерігається порушення гомеостазу:

14. Вкажіть, скільки фаз виділяє Г.Сельє у розвитку стресового стану організму риб за дії на них токсикантів:

15. Вкажіть, яка система є сполучною ланкою формування реакції-відповіді риб на дію токсикантів між нервовою і ендокринною системами:

16. Вкажіть, якій фазі розвитку реакції-відповіді організму риб на стресуючий вплив токсикантів відповідає стан ГГНС, який характеризується активним синтезом і виведенням нейрогормонів у кров'яне русло:

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1 | підвищення резистентності організму |
| 2 | зниження резистентності організму |
| 3 | реакція тривоги |
| 4 | виснаження |

17. Вкажіть, якій фазі розвитку реакції-відповіді організму риб на стресуючий вплив токсикантів відповідає стан ГГНС, який проявляється накопиченням нейросекрету у всіх відділах цієї системи:

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1 | зниження резистентності організму |
| 2 | реакція тривоги |
| 3 | виснаження |
| 4 | підвищення резистентності організму |

18. Побудуйте послідовно схему участі ендокринної системи риб у формуванні реакції-відповіді на дію токсичних речовин:

- | | |
|---|---|
| 1 | А. Гіпоталамус |
| 2 | Б. Передня доля гіпофізу |
| 3 | В. Інтерреналові клітини |
| 4 | Г. Синтез і викид кортикостероїдів у кров'яне русло |

19. Вкажіть первинні ефекти реагування ендокринної системи риб на вплив токсичних речовин:

- | | |
|---|--|
| 1 | підвищення частоти серцебиття |
| 2 | синтез і викид у кров'яне русло кортикостероїдів |
| 3 | зниження рівня цукру у крові |
| 4 | зниження запасів глікогену у печінці |

20. Вкажіть вторинні ефекти реагування ендокринної системи риб на вплив токсичних речовин:

1	активація діяльності інтерреналових клітин
2	синтез і викид у кров'яне русло катехоламінів
3	синтез і викид у кров'яне русло кортикостероїдів
4	підвищення частоти дихальних рухів

21. Підберіть визначення для терміну «токсикорезистентність риб»:

1	здатність організму виживати за тривалої дії на нього малих концентрацій токсичної речовини
2	здатність живих організмів сприймати дію зовнішніх або внутрішніх подразників
3	реакція на будь-яку дію будь-якої отрути
4	здатність живих клітин організму активно реагувати на впливи зовнішнього середовища

22. Назвіть сезон року, коли відмічається найвища токсикорезистентність риб:

--

23 Розставте назви отрут відповідно механізму дії на функціональні системи риб::

А. Гемолітичні	1. Порушують клітинний метаболізм
Б. Ензиматичні	2. Порушують діяльність нервової системи
В. Протоплазматичні	3. Блокують ферментативні системи
Г. Нервово-паралітичні	4. Порушують діяльність кровоносної системи та кровотворення

24. Розставте послідовно етапи виконання клінічного дослідження причин масової загибелі риб:

1	А. Моделювання в лабораторії ситуації на водоймі
2	Б. Патолого-морфологічне обстеження загиблої риби
3	В. Оцінка масштабів збитків внаслідок отруєння гідробіонтів
4	Г. Спостереження за поведінковими реакціями
5	Д. Встановлення екологічної ситуації на водоймі
6	Е. Патолого-анатомічний розтин загиблої риби

25. Вкажіть термін, який позначає стійкість риб до дії отрут:

--

26. Вкажіть фізіологічні патології, які виникають у риб під впливом токсикантів:

1	блокування дихального центру
2	активація ферментних систем
3	підвищення інтенсивності метаболічних процесів
4	зниження інтенсивності метаболічних процесів
5	блокування ферментативних систем

27. Вкажіть ознаку токсичної дії отрут на організм риб на рівні біохімічних показників:

1	зниження температури тіла
2	зниження загального вмісту сироваткових білків крові
3	зниження конкурентоспроможності
4	зниження життєстійкості

28. Яка теорія лежить в основі пояснення закономірностей формування багатокомпонентної реакції-відповіді риб на дію отрут:

--

29. Вкажіть функціональні системи, які беруть участь у формуванні багатокомпонентної реакції риб на дію токсичних речовин:

1.
2.
3.

30. Вкажіть, з чим пов'язана зміна токсикорезистентності риб у різні сезони року:

1	різна швидкість розщеплення глюкози
2	різна чутливість різних видів риб до отрут
3	різна інтенсивність метаболічних процесів
4	різна швидкість синтезу металотіонеїнів

31. Вкажіть, які види риб є низькочутливими до дії отрут:

1	форель струмкова
2	форель райдужна
3	білизна
4	плітка

32. Назвіть фізіологічний механізм в організмі риб, з яким пов'язана реакція уникнення ними забрудненого середовища:

--

33. Підберіть визначення для терміну «поріг подразнення»:	
1	мінімальна сила подразнення, яка викликає за даних умов занепокоєння риб
2	найменша сила подразника, здатна викликати збудження нервових, м'язових або залозистих клітин
3	максимальна сила подразнення, яка викликає за даних умов гіперреакцію у риб
4	найбільша сила подразника, здатна викликати збудження нервових, м'язових або залозистих клітин

34. Підберіть визначення для терміну «абсолютна чутливість риб до дії отруту»:	
1	здатність організму виживати за тривалої дії на нього малих концентрацій токсичної речовини
2	специфічна реакція на дію певної отрути чи певну концентрацію отруту
3	реакція на будь-яку дію будь-якої отрути
4	здатність живих клітин організму активно реагувати на впливи зовнішнього середовища

35. Підберіть визначення для терміну «диференційована чутливість риб до дії отруту»:	
1	здатність організму виживати за тривалої дії на нього малих концентрацій токсичної речовини
2	здатність живих організмів сприймати дію зовнішніх або внутрішніх подразників
3	реакція на будь-яку дію будь-якої отрути
4	чутливість до зміни дії чи її характеру

36 Вкажіть, скільки фаз виділяє Г.Сельє у процесі розвитку стресового стану у риб у відповідь на дію токсикантів:

37. Вкажіть індикаторні ознаки токсичного ефекту для вуглеводного обміну у риб:	
1	підвищення рівня вмісту сироваткових білків у крові
2	анаеробний гліколіз з утворенням молочної кислоти
3	блокування холінестерази
4	активація тіамінази
5	неспівпадання напрямку обміну з потребами організму
6	гіпоглікемія

38. Вкажіть, в яких випадках підвищується токсичність отрут у водному середовищі?	
1	при підвищенні мінералізації води
2	при зниженні температури води
3	при підвищенні вмісту розчиненого у воді кисню
4	при підвищенні температури води
5	при зижненні вмісту розчиненого кисню у воді
6	при зниженні мінералізації води

39. Вкажіть, з чим пов'язана неоднакова стійкість різних видів риб до дії отрут:	
1	тип розмноження
2	характер живлення
3	ареал поширення
4	ступінь розвитку локомоторного апарату

40. Підберіть визначення для терміну «оберненість отруєння риб»:	
1	повернення організму у нормальний стан після припинення експозиції до токсикантів
2	відхід риб у чисті зони
3	зниження токсичності речовини при утворенні комплексних сполук
4	повернення риб у межі природного ареалу

41. Вкажіть, яка стадія розвитку токсичного процесу за отруєння риб фенолами є необерненою:	
1	занепокоєння
2	агонія
3	розлад чутливості
4	часткова втрата рівноваги

42. Вкажіть, яка стадія розвитку токсичного процесу в організмі риб є високооберненою:	
1	занепокоєння
2	втрата рівноваги
3	атаксія
4	агонія

43 Вкажіть клінічні ознаки отруєння риб отрутами локальної дії?	
1	світле забарвлення тіла
2	підвищення вмісту аміаку в крові
3	ураження респіраторного епітелію зябер
4	руйнування еритроцитів
5	виділення слизу на поверхні тіла і зябер

44. Вкажіть, які якісні показники червоної крові виступають у якості індикаторних ознак отруєння риб токсикантами:

1	забарвлення крові
2	каріоліз
3	питома вага
4	об'ємна вага
5	пikноз
6	знебарвлення ядра

45. Вкажіть роль спинного мозку риб у формуванні реакції-відповіді на дію отруту:

1	сенсорний аналізатор
2	керуючий цент
3	ланцюг рефлексорної дуги
4	синтетичний центр

46. Вкажіть напрям патологічних змін ферментативних систем крові під впливом токсикантів:

1	поява індукованих біоактивних сполук
2	зниження питомої ваги зразків тканин
3	зниження поверхневого натягу рідин в організмі
4	підвищення оптичної щільності тканин

47. Вкажіть, до яких забруднювачів більш вірогідна адаптація риб:

1	озон
2	фенол
3	сірчана кислота
4	цинку сульфат
5	нафта
6	сапоніни
7	спирти

48. Поставете діагноз отруєння риб, виходячи з наступних ознак: сповільнені рухи по колу, підвищений дихальний ритм, рясне виділення слизу на шкірі і зябрах, товста оболонка прозорого слизу на поверхні тіла, рН слизу=10-11

1	отруєння аміаком
2	отруєння ціанідами
3	отруєння кислотами
4	отруєння лугами

49. Поставте діагноз отруєння риб, виходячи з наступних ознак:
наркотичний стан, параліч нервово-мускуляторного апарату, сильне ураження респіраторного епітелію, руйнування еритроцитів, світле забарвлення тіла риби

1	отруєння солями калію
2	отруєння солями натрію
3	отруєння солями заліза
4	отруєння молібденом

50. Поставте діагноз отруєння риб, виходячи з наступних ознак:
підвищена рухова активність, вертіж, дихальний ритм повільний, рясне слизевиділення із зябер, відшарування респіраторного епітелію, зябра світлого сірого кольору:

1	отруєння калію перманганатом
2	отруєння перекисом водню
3	отруєння хлором
4	отруєння солями заліза

51. Поставте діагноз отруєння риб, виходячи з наступних ознак:
кидкоподібний рух риб, гіперреакція на подразники, інтенсивні судоми, кровотеча із зябер, широко розкриті зяброві кришки і рот, порушення білкового обміну

1	отруєння аміаком
2	отруєння ціанідами
3	отруєння кислотами
4	отруєння лугами
5	отруєння хлором

52. Поставте діагноз отруєння риб, виходячи з наступних ознак:
наркотичний стан (відсутність реакції на подразнення, рух за током води), параліч нервово-мускуляторного апарату, сильне ураження респіраторного епітелію, руйнація еритроцитів, темне забарвлення тіла риби

1	отруєння солями калію
2	отруєння солями натрію
3	отруєння солями заліза
4	отруєння молібденом