

# ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

УДК [577.23+615.95]574.64

В.В. ГРУБИНКО

Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка  
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь, 46027, Украина

## **СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНОЙ СРЕДЫ**

В статье рассматривается проблема физиолого-биохимической оценки токсичности водной среды для гидробионтов с точки зрения системного представления об организации биологических систем. Автор, опираясь в основном на результаты собственных исследований, предлагает ряд метаболических подходов и коэффициентов, рассчитанных на основании анализа механизмов обеспечения метаболического гомеостаза в организме гидробионтов для оценки их благополучия в токсичной водной среде. Сделан вывод, что в организме гидробионтов функционируют некоторые метаболические системы (аденилатная, никотинамидная, глутамат-глутаминовая, энергетическая, липидная энцефалическая, белковая сыворотки крови и др.), которые формируют токсикорезистентность водных организмов как их функцию как биологических систем.

*Ключевые слова: физиологические и биохимические показатели, гидробионты, токсичность, системная оценка, водная среда*

Европейская экологическая перспектива рассматривается как система мониторинга и оценки экологических опасностей и предупреждения о них и прогнозирования их возможного последствия для экологического состояния вообще и отдельных территорий в частности. Вместе с тем, современная методология оценки экологического состояния экосистем основана на принципе сравнения структурных и функциональных показателей реальных экспертных объектов с близкими по характеристикам к исследуемой условно эталонными (референтными) экологическими системами. Однако и в этой парадигме остается открытым вопрос относительно единственных универсальных критериальных характеристик экологической опасности независимо от источников их происхождения, параметрических и кодовых (количественных) характеристик способов и механизма действия.

Принимая во внимание огромное количество факторов, которые определяют состояние природной среды (только количество веществ, отнесенных к классу поллютантов, составляет около 150 тыс.), самой перспективной (возможно единственно возможной) является оценка ее качества по состоянию самих биосистем, а изменения состояния среды должны оцениваться по функции отзыва биосистем. В этом аспекте приоритет, бесспорно, принадлежит структурно-функциональным параметрам живых систем, которые могут одинаково успешно применяться как к организмам, независимо от их систематического положения, так и к их сообществам.

Учитывая отмеченное целью этой работы было проанализировать возможность применения системного подхода для оценки токсичности гидроэкосистем.

Поскольку в толкованиях терминов и понятий относительно проблемы загрязнения природной среды и оценки состояния экосистем сегодня не только в популярной, но и в

научной, литературе имеются достаточно существенные расхождения, в работе использованы общепринятые в настоящее время определения основных понятий согласно Водной рамочной директивы ЕС 2000/60/ЕС [4, 39].

Для объяснения состояния любых явлений и процессов используют общетеоретическое (философское) осмысление их организации и динамики как целостных структур, которые описываются с точки зрения теории систем. В определение «система» вкладывают два основных понятия: одно тяготеет к философской трактовке (В.Н. Садовский, 1974); другое основывается на практическом использовании системной методологии и тяготеет к выработке общенаучного понятия системы (У.Р. Эшби, Дж. Клир) [1]. Онтологическое содержание понятия «система» заключается в толковании системы как «целого, составленного из частей», осознания целостности и расчленения как естественных, так и искусственных объектов. системы как комплекса взаимодействующих компонентов. В настоящее время именно поэтому закрепился термин «материальная система как целостная совокупность материальных объектов». Относительно живых систем, то П.К. Анохиным предложено понятие «функциональная система» (система, которая сформирована для достижения в процессе своего функционирования заданного полезного результата (целевой функции), которая является системообразующим фактором [2]. В этом контексте система выступает как комплекс избирательно привлеченных элементов, которые взаимно способствуют достижению заданного полезного результата.

Исходя из отмеченного, выделяют критерии систем [32]: детерминация системообразования; структурно-функциональная целостность и интегративность; упорядоченное (организованная) взаимодействие (диссипативность), целенаправленность, мультипликативная; декомпозиция (структурно-функциональная индивидуальность элементов и их интегративное единство); функциональная иерархичность и эмергентность ( $S_{\text{сис.}} > S_1 + S_2 + S_3 + \dots + S_{n-1}$ ); коммуникативность (наличие внутренних и внешних взаимодействий); устойчивость (самоподдержание) – анализ, саморегуляция, адаптивность; самовоспроизведение и наследственность (морфогенез, размножение, сукцессия); саморазвитие: феноменологическая и динамическая функциональность — континуальность и дискретность, эквифинальность (онтогенез, эволюция). Все отмеченные свойства можно сгруппировать в три категории: структурная целостность и функциональное единство; динамическое саморазвитие, саморегуляция и адаптация; функциональная эквифинальность.

Первая из основных в совокупности свойств является организация по принципу включенности структурных элементов, которая обеспечивает целостность системы и функциональную единству ее элементов [9]. В системах рядом с иерархичностью элементов каждый из них, владея уникальной структурно-функциональной индивидуальностью, является обязательным (уникальным) компонентом системы, благодаря чему и многочисленному количеству функциональных связей (векторные взаимодействия) обеспечивается устойчивость, самоорганизация и самоподдержание системы. Общие характеристики системы являются единством свойств элементов, вместе с тем не их суммой, а новым свойством, по характеристике более важным, чем свойства каждого элемента. Поэтому можно говорить о гетерогенности (полиморфизм и изоморфизм), симметрии и асимметрии систем. Выпадение (элиминация) любого  $i$ -го структурно-функционального элемента любого порядка организации уменьшает степень реализации этих глобальных свойств, в следствие чего система дестабилизируется. Организация системы по принципу включенности вместе с тем не означает ее полную замкнутость (изолированность) от среды в целом и отдельных элементов, особенно низших иерархических порядков, в частности. Их количеством и интенсивностью, а также энергетическим потенциалом взаимодействия (изменение энтропии), определяется степень открытости системы, ее зависимость (чувствительность) от внешних факторов и, соответственно, способность поддерживать определенный уровень гомеостаза.

Другим фактором функциональной эффективности систем является динамическое взаимодействие внутри систем со многими переменными. Для системы характерно то, что к ней постоянно поступает извне вещество и энергия. Внутри системы последняя превращается, образуя компоненты высшей сложности (продуктивность). При соответствующих условиях

открытая система достигает состояния динамического равновесия, в котором ее структура остается постоянной, но, в противоположность обычному равновесию, это постоянство хранится в процессе непрерывного обмена и движения вещества, из которого состоит. Динамическое равновесие открытых систем характеризуется принципом *эквифинальности*, то есть в отличие от состояния равновесия в закрытых системах, полностью детерминированных начальными условиями, открытая система может не зависимо от времени достигать состояния, которое не зависит от ее исходных условий и определяется исключительно параметрами системы. Следовательно, в системах при условии сохранения общего уровня динамического равновесия возможны диссипативно-континуальные изменения (переходы) состояний: стационарное состояние системы изменяется с ее следующим количественным и качественным переходом на новый уровень структурно-функциональной эквифинальности (революция, эволюция). При этом переходы от одного к другому дискретному состоянию могут осуществляться по-разному (эволюционные изменения или революционные прыжки в один или несколько этапов) и за разными механизмами в направлении структурно-функционального осложнения (прогресс) или упрощения (регресс), которое определяется эквифинальной целесообразностью.

Согласно второго закона термодинамики в природе существует постоянная тенденция к росту хаоса в виде выравнивания температур, рассеяния энергии, разрушения структур. Эти процессы количественно описываются с помощью энтропии. Изменение состояния системы описывается соответствующим изменением особой функции состояния – энтропии ( $S$ ), которая определяется суммарной величиной поглощенных системой приведенных теплот ( $Q/T$ ). Равновесная термодинамика рассматривает начальное и конечное состояние системы, а направленность процесса определяется разницей параметров системы в этих состояниях. В изолированных системах  $dQ = 0$  и, следовательно,  $dS = 0$ . В этом и заключается эволюционный критерий направленности необратимых изменений в изолированных системах, которые всегда происходят с увеличением энтропии к ее максимальным значениям при окончании процесса и установлении термодинамического равновесия. Применение второго закона к системам в его классической формулировке приводит, на первый взгляд, к парадоксальному выводу, что процессы в живых образованиях происходят с нарушением принципов термодинамики. В действительности, осложнение и увеличение упорядоченности структур в период их роста и формирования сопровождаются уменьшением, а не увеличением энтропии. Энергия, которая поступает в систему, распределяется по меньшей мере на три части: часть фиксируется на качественное и количественное развитие; часть тратится на поддержание функционирования; третья часть потока энергии не усваивается (коэффициент полезного действия системы). Энергия, которая фиксируется и распределяется в результате материально-энергетического превращения, представляет ту ее часть, которая способствует поддержанию формообразования компонентов (составных элементов системы) и целостности системы как устойчивой структурно-функциональной макроструктуры (формообразования системы как целостного образования). Согласно И. Р. Пригожина [24], эта энергия формообразования ( $\sigma$ ) как раз и представляет фиксированную («внутреннюю») энтропию, которая «скрыта» в виде функциональной организации структур на всех уровнях организации системы. Поэтому энтропия системы в действительности растет, однако в классическом (равновесном) варианте трактовки термодинамических процессов эта энтропия не проявляется (не измеряется), потому что является «скрытой» («связанной»). Следовательно, при описании энергетического статуса систем как открытых структур проблема потому заключается в том, чтобы, во-первых, понять, как связанное изменение энтропии с параметрами процессов в открытой системе, а, во-вторых, выяснить, можно ли предусмотреть общее направление необратимых процессов в открытой системе по изменению ее энтропии. Неравновесная термодинамика рассматривает скорость перехода энергии с течением времени, свойства и характеристики потока энергии. Поэтому она оперирует понятием «поток» – поток веществ, энергии, энтропии. Поэтому величиной оценки энергетического состояния системы может быть как запас внутренней энергии системы ( $\sigma$ ) как показатель ее общего благополучия и сопротивляемости к действию факторов, так и динамика ее изменений (флуктуаций) в процессе превращений и при модифицирующем влиянии

дополнительного(-ых) фактора(-ов). Увеличение в пространстве-времени дифференциации приводит к увеличению энергии, которая фиксируется системой. Основанная на накоплении энергии система пытается увеличить продуктивность и сложность. Последняя достигается за счет гетерогенности (многообразия): чем более сложные и чем дольше существуют пространственно-временные дифференциации, тем больше их запас энергии [32]. Отсюда ответ на вопрос: «Почему так много разнообразных систем и их состояний»? Часть ответа заключается в том, что вместо линейных цепей природа создала их разветвление. Однако, многообразие в конечном измерении определяется количеством энергии. Многообразие как правило растет с продуктивностью. Следовательно энергия продуктивности и гетерогенности играют основную роль в формировании многообразия.

Исходя из отмеченного, выделяем многообразие и продуктивность как необходимое условие структурно-функциональной успешности (устойчивость в конкретных условиях существования и пространственно-временном измерении), которая определяет энергетический статус систем и их функциональную эквифинальность (рис. 1).

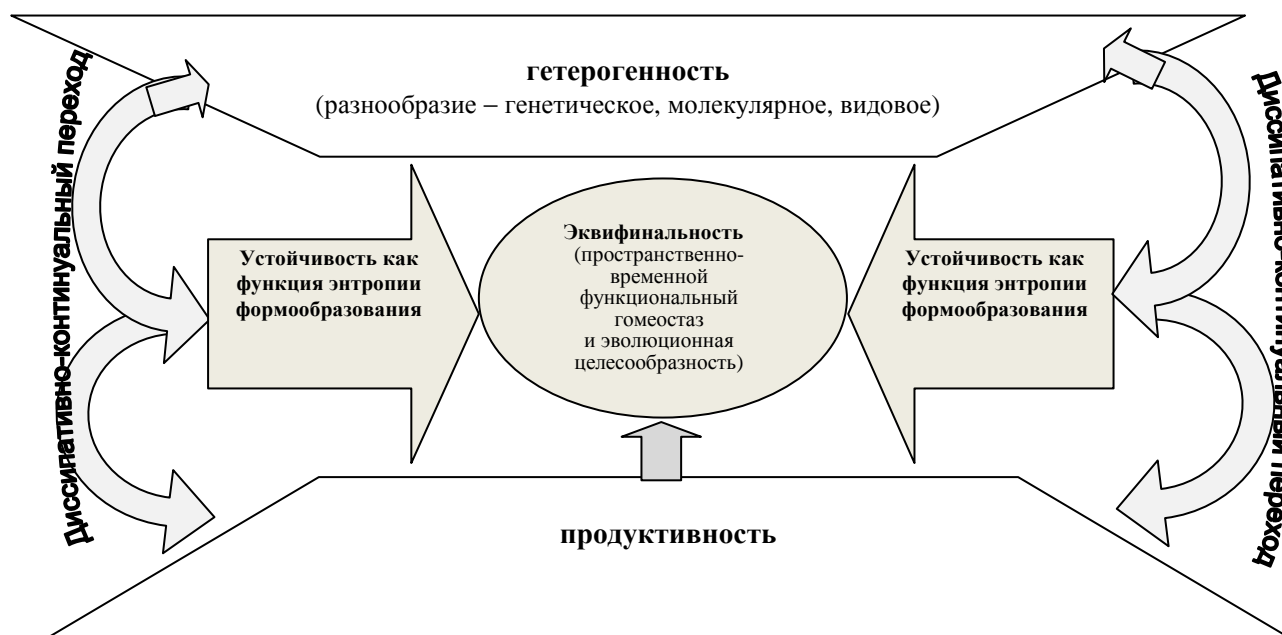


Рис. 1. Структурно-динамическая схема формирования «успешности» системы в пространственно-временном измерении

При этом в понятие «многообразие» вкладываем комплексную гетерогенность (структурная, морфологическая, функциональная разнокачественность и т.п.), а в понятие «продуктивность» (способность системы за счет обеспечения функционирования как можно большего количества и скорости внутренних циклов, которые формируют в ней поток энергии определенной емкости и скорости), фиксировать внутреннюю энергию как результат многообразия форм определенного количества и сложности (формообразования как следствие количественного и качественного развития системы). Поэтому при оценке состояния системы целесообразно говорить об оценке ее гетерогенности в конкретных пространственно-временных пределах, и продуктивности, за счет чего обеспечивается устойчивость стационарного состояния системы в конкретных пространственно-временных пределах (дискретное состояние) и накопление потенциала для континуального перехода — революционные или эволюционные изменения, которые обеспечивают существование системы в общеэволюционном процессе, то есть формируют ее *эквифинальность как интегральное свойство, определяющее целесообразности существования системы.*

**Общие принципы системной оценки экологических образований.** Действие факторов на организмы рассматривается с эволюционной, функциональной (физиолого-биохимической) и экологической точек зрения. Однако изучение реакций организмов на токсичное влияние

разных веществ ограничивается преимущественно определением выживания, или резистентности. В настоящее время эта проблема привлекает внимание не только с токсикологической и природоохранной точек зрения, но и с теоретической, поскольку дальнейшая эволюция жизни на Земле будет осуществляться при значительном влиянии разных токсикантов на все процессы жизнедеятельности. Химическое загрязнение среды жизнедеятельности стало действующим фактором эволюционного процесса [35].

В настоящее время сложилось четкое представление о том, что собой представляет токсичность среды для организмов. Поскольку в основе процессов жизнедеятельности, как и в основе изменений химического состава природной среды в целом, лежит химический акт, сущностью которого является превращение исходных веществ в продукты их трансформации, токсичность в первую очередь определяется наличием в среде неспецифических для организмов (экосистем) веществ в любых количествах или превышением определенных биологически безопасных пределов веществ литогенного, биогенного (биологическое загрязнение, связанное с естественными процессами отмирания и разложения биомассы, вследствие этого вторичной интоксикацией в результате химической модификации биогенных веществ другими токсикантами) или антропогенного происхождения [8]. Среди факторов, которые определяют токсичность главными являются: форма (физическое и химическое состояние) вещества, скорость ее поступления в окружающую среду из источника образования (аккумуляции), пути и характер миграции и трансформации (физической, химической, биологической) в разных компонентах экосистем, характер взаимодействия веществ (синергизм, антагонизм), чувствительность (реакция) биологических систем (молекул, клеток, организмов, популяций, биоценозов и экосистем в целом) к веществам и продуктам их распада (рис. 2).



Рис. 2. Система факторов, явлений и процессов, формирующих токсичность среды

Поэтому, при определении принципов оценки экотоксикологической ситуации первостепенное внимание обращают на: а) токсикологическую оценку источников загрязнения экосистем; б) химические свойства токсикантов, их миграцию и трансформацию в компонентах экосистем; в) закономерности влияния токсичных веществ на структуру, функционирование и продуктивность живых систем на организменном и надорганизменном уровнях – популяции, биоценозы, экосистемы [3, 26].

**Интегральная оценка метаболизма** Поскольку полная объективность как маркеров токсичности отдельных физиолого-биохимических показателей часто является непродуктивной, опираясь на положение, что реакция на действие токсиканта является системной, в первую очередь, целесообразно остановиться на принципах интегральной оценки интоксикаций.

Традиционно в токсикологии как интегральный показатель состояния метаболизма используют содержание АТФ и значение аденилатного энергетического заряда [27, 33], исходя из того, что эти общеметаболические характеристики являются результатом комплексного повреждения системы энергообеспечения и изменения направленности метаболизма по катаболическому пути (возрастание энтропии). Вместе с тем эти показатели демонстрируют однотипность изменения при любом экстремальном влиянии, что не позволяет считать его токсикоспецифическим. Не установлено также линейной зависимости изменений энергообеспечения клеток от степени интоксикации, что связано со значительным метаболическим запасом прочности энергопродукции за счет существования значительного количества альтернативных эффективных адаптивных механизмов энергообеспечения клеток.

На определенном этапе оценки токсичных влияний для установления нарушений метаболизма использовали соотношение окисленных и восстановленных форм никотинамидных коферментов ( $\text{НАД}(\text{Ф})^+/\text{НАД}(\text{Ф})\text{Н}+\text{Н}^+$ ). Никотинамиды являются регуляторными факторами метаболизма, соотношение окисленных и восстановленных форм которых в определенных субклеточных структурах является пусковым механизмом изменения интенсивности и направленности отдельных ветвей углеводного, липидного, белкового и энергетического обменов (энергетическая и пластическая гетерогенность). Одновременно это соотношение формируется вследствие окислительно-восстановительного состояния отдельных дегидрогеназных ферментных систем и динамики их субстратов. Например, при действия аммиака у рыб выявлено увеличение пула восстановленных НАД-пар в цитоплазме клеток, соответственно в цитоплазме клеток печени соотношение  $\text{НАД}^+/\text{НАДН}+\text{Н}^+$  снижается. Уменьшалось также соотношение  $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}+\text{Н}^+$ . Вместе с тем, изменения показателей были разнохарактерными по тканевой и субклеточной локализации и связаны с особенностями метаболизма токсиканта [11]. Поэтому как единственный надежный тест-показатель это соотношение также рассматривать нельзя.

В проведенных нами исследованиях [6, 13, 16] установлено, что в целом на физиолого-биохимическом уровне гомеостаз функциональной активности органов обеспечивают субстратный баланс, направленность и скорость метаболических превращений через регуляцию субстрат-энергетического баланса, который определяет барьерную и детоксицирующую функции клеток. Отмеченные изменения, в основном, направлены на обеспечение защиты от токсикантов-индукторов и вторичных метаболитов-токсикантов. Осуществляет этот процесс комплексная, целостная структурно-функциональная система гемато- но гепато- энцефалического барьеров и родственные с ними структуры метаболизма и их комплексы.

На уровне сообществ их целостность и стабильность обеспечивают механизмы поддержания структурной индивидуальности и формирования необходимого уровня термодинамического статуса экосистемы (общий запас энергии; изменение соотношения энергии, которая тратится на биосинтез – продукция, дыхание и неусвоенных энергетических эквивалентов; уменьшение количества энергии, которая тратится на формообразование и фиксируется как внутренняя энергия экосистем).

На основе системного структурно-функционального анализа развития патологий в ответ на интоксикацию нами выявлены и предложены некоторые подходы и характеристические показатели диагностирования опасности водной среды, апробированные для гидробионтов.

### **1. Соотношение скорости и емкости субстратсинтезирующих и субстратпревращающих метаболических путей ключевых детоксицирующих систем**

Установлено, что показательным является соотношение активности глутаминсинтетазы в мышцах к активности глутаминазы в жабрах рыб при действии токсикантов водной среды при разных температурах (табл. 1).

Показатель соотношение активности глутаминсинтетазы в мышцах к активности глутаминазы в жабрах карпа при действии токсикантов водной среды при разных температурах

Температура, °С	Ф а к т о р						R
	контроль	NH <sub>3</sub>	Pb <sup>2+</sup> +NH <sub>3</sub>	Ni <sup>2+</sup> +NH <sub>3</sub>	Гипоксия	фенол	
7	9,1	7,5	4,1	6,2	–	5,2	-0,50
20	8,8	8,6	9,4	10,9	1,6	6,3	-0,71
25	11,4	7,2	6,1	10,0	–	8,7	-0,69

Примечание: R - коэффициент корреляции с концентрацией аммиака в мозге рыб

Использованные показатели взяты как ключевые метаболические превращения в системе образования, внутриклеточной фиксации и выведения аммиака у рыб, образующегося в повышенных количествах при любом токсичном стрессе [6]. Индикативным коэффициентом является корреляция отклонения показателя соотношения от контрольных значений [6].

## 2. Коэффициент стабильности протекания метаболических процессов

Одним из характерных примеров расчета такого коэффициента является коэффициент антиоксидантного состояния (КАС) [12, 17, 34]. Для расчета коэффициента использован принцип сопоставления интенсивности функционально разнонаправленных процессов – прооксидантная активность и способность к антиоксидантной защите, которые функционируют в единой метаболической системе перексидного окисления в клетках. С точки зрения системного анализа метаболический статус организма как интегральной термодинамической системы обеспечивается за счет тканевого и метаболического распределения, а также поддержания гомеостатического соотношения интенсивности утилизации, перераспределения и синтеза основных метаболических компонентов клеток. Исходя из этого, комплексность оценки достигается изучением основных наиболее метаболически активных органов. Кроме того, поскольку активность ферментов позволяет оценивать лишь состояние отдельных реакций метаболических цепей, катализируемых ими, а не их активность в целом, а по концентрации метаболитов можно судить только о направленности обмена веществ, но не о его скорости, то объективность оценки уровня биохимической активности организма достигается одновременным исследованием взаимоувязанных показателей динамики и тканевой специфики перераспределения метаболических субстратов, состоянию ферментных систем в отдельных субклеточных структурах, скорости превращение потока метаболитов, а также внутриклеточного перераспределения регуляторных факторов [11]. О состоянии отдельных звеньев антиоксидантной защиты свидетельствуют активность супероксиддисмутазы (СОД), активность каталазы, содержание восстановленного глутатиона, а прооксидантных изменений – образования ТБК-активных продуктов и окислительных модификаций белков в тканях организма (табл. 2) [34].

Основные показатели пероксидного окисления в печени и крови карпа при действии некоторых токсикантов ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Показатель	Ионы						Фенол
	Контроль	Меди	Цинка	Марганца	Свинца	Смесь	
Активность Cu, Zn-СОД, у.е./мг белка	0,19±0,01	0,14±0,01*	0,07±0,01*	0,09±0,01*	0,14±0,01*	0,04±0,01*	0,13±0,03*
Активность Mn-СОД, у.е./мг белка	0,66±0,12	0,67±0,06	0,57±0,05	0,60±0,05	0,41±0,05*	0,59±0,02	0,59±0,02
Активность каталазы, мкат/г белка	0,30±0,01	0,30±0,04	0,27±0,04	0,30±0,01	0,15±0,01*	0,18±0,01*	0,48±0,08*
Содержание GSH, ммоль/г ткани	2,63±0,13	4,06±0,22*	3,85±0,18*	3,65±0,11*	3,01±0,33*	3,79±0,32*	4,30±0,41*
Содержание GSSH, ммоль/г ткани	0,33±0,02	0,75±0,12*	0,99±0,16*	0,89±0,14*	1,37±0,14*	0,79±0,05*	2,29±0,28*
Образование ТБК-активных продуктов, мкмоль/г ткани	27,4±2,4	30,6±3,0	24,6±2,1	25,6±3,0	32,7±2,1	34,5±2,2	54,4±5,3*
Содержание молекул средней массы, у. е./г ткани, 254 нм	678,2±6,8	814,1±14,0*	648,2±39,1	705,0±30,8	687,2±6,8	786,8±26,4	292,5±14,3*
Образование окисных модификаций белков, мМ/г белка	2,0±0,3	2,8±0,5	1,8±0,1	0,5±0,1*	1,2±0,1*	1,0±0,3	–
КАС, отклонение от контроля, %	0	-48	-21	-19	-38	-32	-46

Примечание. \* – отклонение от контроля достоверное,  $p < 0,05$

Коэффициент антиоксидантного состояния (КАС) тканей рассчитывают так:

$$КАС = \frac{\sum A}{\sum P}$$

( $A$  – сумма показателей состояния антиоксидантных эквивалентов – активность СОД, каталазы, содержание небелковых тиолов в ткани;  $P$  – сумма показателей состояния прооксидантных процессов (содержание продуктов пероксидации белков и липидов). Каждый показатель определяют по формуле:  $1 \pm (Md - Mk)/Mk$ , где 1 – характеристика показателя в норме;  $Md$  и  $Mk$  – среднеарифметическое значение показателей относительно опытной и контрольной серий.

В норме КАС составляет 2,0. Уровень отклонения от нормы рассматривают как показатель интоксикационной патологии [12, 34].

Нами с помощью этого коэффициента оценена степень пероксидного поражения организма карпа ионами тяжелых металлов и аммиаком отдельно и в смесях (табл. 3).

Антиоксидантный коэффициент в организме карпа при интоксикациях

Токсикант	Показатели, % отклонения от контроля						Значение КАС
	Малоновый альдегид	Диеновые конъюгаты	Активность				
			СОД	каталазы	пероксидазы	глутатион-пероксидазы	
печень							
контроль	100%	100%	100%	100%	100%	100%	2,00
NH <sub>3</sub>	127,46	126,54	73,46	111,81	77,77	76,18	1,33↓
NH <sub>3</sub> + Mg <sup>2+</sup>	36,66	113,44	516,57	168,71	111,29	127,93	6,16↑
NH <sub>3</sub> + Mn <sup>2+</sup>	301,66	240,46	178,44	82,54	171,15	191,48	1,15↓
NH <sub>3</sub> + Pb <sup>2+</sup>	307,28	128,63	78,56	91,37	126,54	102,63	1,01↓



## ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

Продолжение таблицы 3							
жабры							
контроль	100%	100%	100%	100%	100%	100%	2,00
NH <sub>3</sub>	83,41	80,73	73,34	90,54	123,98	112,47	2,44↑
NH <sub>3</sub> +Mg <sup>2+</sup>	87,09	90,79	139,96	117,75	103,02	113,57	2,67↑
NH <sub>3</sub> +Mn <sup>2+</sup>	32,96	100,25	93,17	90,28	76,34	93,97	2,66↑
NH <sub>3</sub> +Pb <sup>2+</sup>	109,32	130,53	70,82	91,34	81,05	55,41	1,25↓
кровь							
контроль	100%	100%	100%	100%	100%	100%	2,00
NH <sub>3</sub>	156,49	240,14	63,02	73,73	61,38	101,62	0,76↓
NH <sub>3</sub> +Mg <sup>2+</sup>	120,32	105,43	102,31	107,96	89,67	108,78	1,81↓
NH <sub>3</sub> +Mn <sup>2+</sup>	108,89	113,05	113,85	80,09	82,47	105,90	1,72↓
NH <sub>3</sub> +Pb <sup>2+</sup>	175,97	578,87	94,16	56,25	70,50	11,02	0,44↓

Из полученных данных видно, что значения коэффициента в разных тканях могут отклоняться от условно стандартной величины в контроле в сторону увеличения или уменьшения, что свидетельствует о нарушении гомеостатического равновесия в системе прооксидация – антиоксидантная защита. Чем больше такое отклонение, тем опаснее действие токсикантов. С этих позиций в данном случае опаснейшей для всех тканей и организма в целом является действие на рыб аммиака и его смеси с ионами свинца.

### 3. Граф-схемы относительного изменения соотношения направленности и скорости превращений в метаболических системах клетки

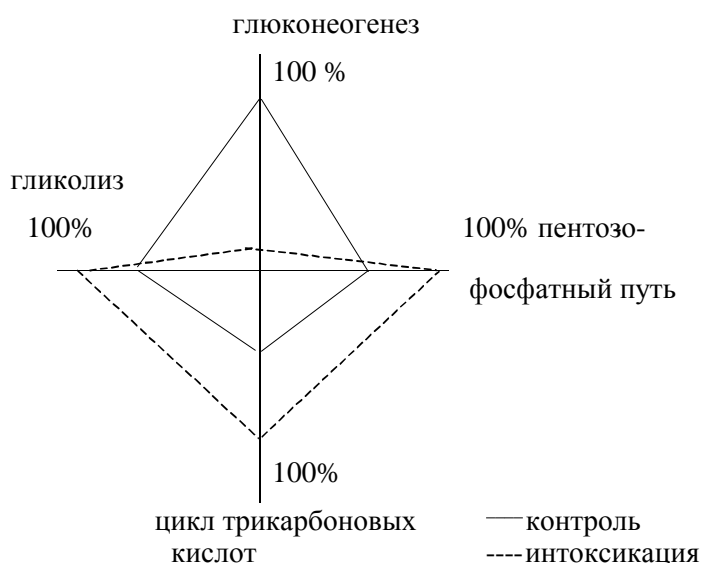


Рис. 3. Граф-схема соотношения активности (%) основных энергетических систем в мозге карпа при действии NH<sub>3</sub> и Pb<sup>2+</sup>.

Как индикативный используют показатель степени отклонения (деформации) граф-схемы в условиях интоксикации по сравнению с контрольным вариантом, который отображает глубину изменений в направленности превращений в системе обмена веществ. В приведенном примере имеет место активация окисления энергетических субстратов путем гликолиза, пентозофосфатным путем и в цикле трикарбоновых кислот с одновременным угнетением глюконеогенеза по сравнению с нормой, которая свидетельствует о смещении на 50-80% энергетического обмена в сторону катаболизма энергетических субстратов и снижения интенсивности их возобновления путем синтеза *de novo*.

Данный подход успешно применен для системной интерпретации комплекса метаболических нарушений при действии целого ряда органических токсикантов, включительно пестицидов, у карпа [13] и неблагоприятных природных факторов,

включительно антропогенного загрязнения, у пресноводных моллюсков[14]. В этих работах большое количество отдельных метаболических показателей, иногда разнонаправленных, не дало возможности комплексно оценить состояние организмов в концентрационно-временном многообразии влияний критических экологических факторов. Прогнозирование направленности метаболических процессов и энергетического статуса, а также метоболической токсикорезистентности удалось сделать только на основании системного анализа с помощью граф-схем эюрного типа.

#### **4. Системная оценка поддержания уровня(содержания) отдельных ключевых (регуляторных) метаболитов**

Принимая во внимание метаболическую целостность процесса детоксикации и адаптации к токсикантам, можно выделить вещества, которые объединяют метаболические системы в единое целое (систему метаболизма), или находятся на перекрестке метаболических путей и, таким образом, скоростью образования или превращения регулируют направленность и скорость обмена веществ в целом. В определенной степени такие метаболиты выполняют функцию поддержания метаболического гомеостаза, а если включены в систему протонного транспорта, то и кислотно-основного. Метаболизм таких веществ играет роль регуляторного фактора и лимитирует притеснение определенного метаболического процесса (системообразующий фактор). В ряде случаев такие вещества являются мишенями токсикантов. В этом случае содержание или скорость превращения метаболита может быть объективным токсикоиндикаторным показателем.

*Система глутамат-глутаминового обмена.* Известным примером регуляции направленности метаболических превращений является ацетил КоА, который находится на перекрестке гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, окисления и синтеза высших жирных кислот (ВЖК), его скорость и конечные продукты в разных компартментах клетки определяют как эффективность энергообеспечения, так и синтезную функцию клеток. Нами в модельной системе при интоксикации организма животных аммиаком выявлена центральная (гомеостатическая) роль глутамина (рис. 4).

Поскольку в основе большинства изменений, вызванных аммиаком, лежит снижение его выведения из организма в условиях повышения уровня в водной среде, происходит его накоплением во внутренних органах, а также снижением насыщения тканей кислородом и нарушением ионного состава крови и обмена ионов в жабрах рыб. Первое вызывает изменение кислотно-основного равновесия в крови и, очевидно, в мышцах, где активируется гликолиз. Эти изменения в значительной мере предопределяют сдвиг функционирования систем энергообразования и вызывают перераспределение энергетических и пластичных ресурсов организма. Выявлено расщепление белков лизосомальными протеиназами и увеличение содержания свободных аминокислот при сохранении общего содержания белков постоянным. Последнее свидетельствует скорее не об их использовании в энергетических процессах путем окисления аминокислот, а о глубоких перестройках белкового состава клеток, заключающегося в синтезе адаптивных белков и активировании процессов аминирования. При этом некоторые аминокислоты могут выполнять специфические функции, например, выступать в качестве источника пировиноградной кислоты в мышцах, участвовать в детоксикации аммиака (глутамат, аспарат, аланин), выполнять нейромедиаторную функцию (глутамат в мозге). В значительной мере указанные изменения можно отнести и к липидам, роль которых в энергообеспечении организма при условии ингибирования цикла трикарбоновых кислот также снижается. Увеличение содержания высших жирных кислот в крови рыб свидетельствует как о развитии в их организме устойчивого стрессового синдрома, так и возможности их участия в биосинтезе глюкозы путем глюконеогенеза и образовании кетоновых тел как дополнительного субстрата окисления в тканях, которые находятся в условиях недостатка энергетического обеспечения.

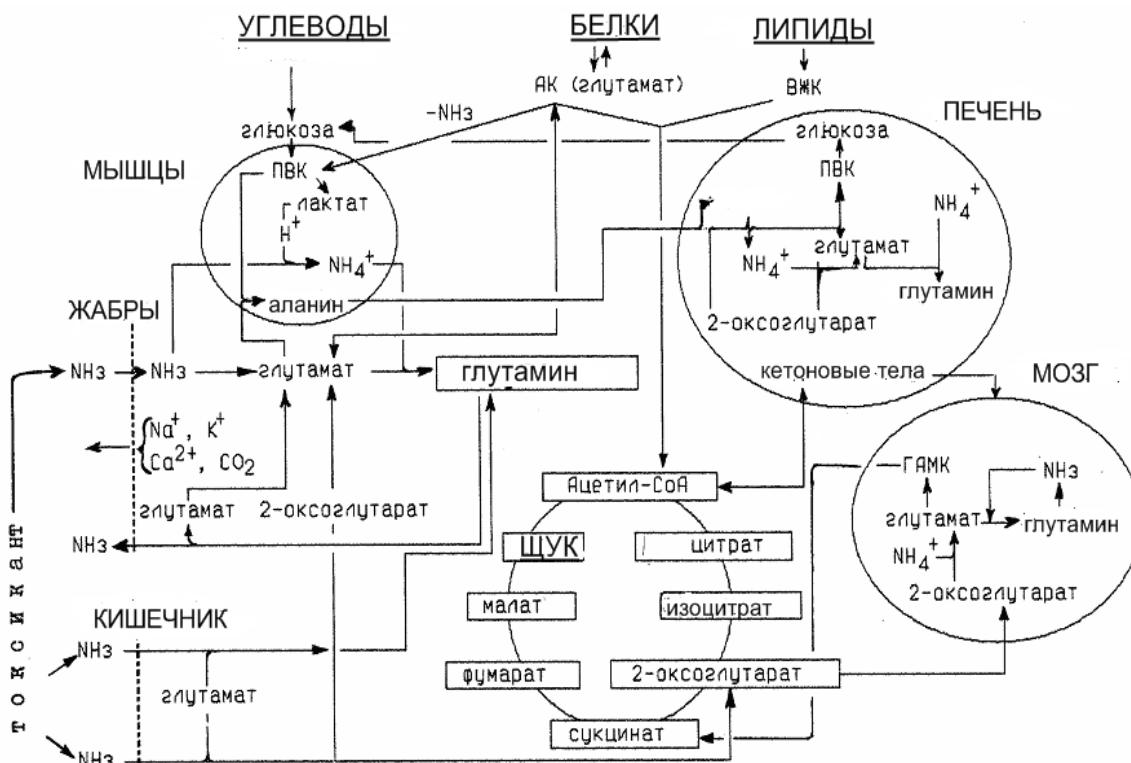


Рис. 4. Комплексная метаболическая адаптация в организме животных к аммиаку [6]

Анализ соотношения активности систем энергопродукции свидетельствует об увеличении их роли в поддержании метаболического и кислотно-основного гомеостаза, функции, которая снижает их участие в образовании АТФ, содержание которого при действии аммиака значительно снижается. Роль углеводного обмена заключается, в первую очередь, в продуцировании лактата для поддержания рН в условиях защелачивания внутриклеточной среды аммиаком, ресинтезе глюкозы путем глюконеогенеза для поддержания ее гомеостатического уровня при интенсивном использовании гликогена для энергообеспечения, активации пентозофосфатного шунта для образования восстановленных форм никотинамидных коферментов. При этом имеет место ингибирование цикла трикарбоновых кислот вследствие снижения кислородообеспечения тканей и извлечение из пула его интермедиатов ацетил-КоА для синтеза в печени кетоновых тел и 2-оксоглутарата, который используется для детоксикации аммиака в НАДФН-глутаматдегидрогеназной реакции. Можно отметить также, что интенсивное образование пирувата в мышцах способствует включению аминокислотного (глутаматного) аммиака в аланин, чем достигается образование 2-оксоглутарату для детоксикации аммиака и его удаление в виде аланина в печень. Аналогичное явление, очевидно, имеет место и в мозге, которое приводит к снижению роли трикарбонового цикла в его энергообеспечении. В мозге к этому приобщается функционирование разновидности цикла трикарбоновых кислот – гамма-аминобутиратного шунта. Установлено, что аммиак ингибирует его энергетическую ветвь, активируя одновременно с этим образование нейромедиаторов – ГАМК и ГОМК, участвующих в регуляции толерантности ЦНС к аммиаку в условиях ингибирования ацетилхолинэстеразного механизма нейротрансмиссии. Энергетическое обеспечение в таких условиях осуществляется за счет адаптивных механизмов, например, синтеза в печени и использовании другими органами, в первую очередь в мозге, кетоновых тел. Указанные особенности энергетического метаболизма с одной стороны являются следствием ряда изменений, вызванных аммиаком, с другой – выступают в качестве причины специфичной перестройки других метаболических путей.

При действии аммиака энергообмен, прежде всего, тесно связан и обеспечивает обезвреживание аммиака путем его связывания в глутамат и, затем, глутамин. С одной стороны роль энергосистем заключается в поставке для этого субстрата для НАДФН-глутаматдегидрогеназной реакции 2-оксоглутарата и НАДФН+Н<sup>+</sup>, с другой – в энергообеспечении АТР-зависимой глутаминсинтезной реакции. Следует отметить, что синтез глутамина является центральным звеном в системе обезвреживания аммиака при повышении его уровня в водной среде и их организме. Первостепенная роль глутамина, очевидно, предопределена тем, что молекула этой аминокислоты в отличие от многих других аминокислот является нейтральной, владеет низкой химической активностью (глутамин не имеет прямого модифицирующего действия на макромолекулы и структурно-функциональные системы клеток), а также легко, без расходов энергии путем диффузии проникает через мембраны клеток, обеспечивая равномерное распределение пула азота в организме. Эти особенности способствуют тому, что глутамин приоритетно транспортируется в органы выделения, где его уровень всегда более низкий, чем во внутренних органах, и расщепляется с удалением аммиака во внешнюю среду. Поскольку аммиака выделяется путем обмена с ионами кальция, калия и натрия, скорость поступления и расщепления глутамина может регулировать процессы ионного обмена между организмом и средой. Значительное снижение выделения аммиака в связи с изменением ионного обмена и угнетения мембранных АТР-аз является одной из причин нарушения азотного гомеостаза в организме при повышении его уровня.

Кроме того, следует отметить существенную роль глутамина как формы накопления метаболического азота в организме, который может использоваться в биосинтетических процессах, включительно для синтеза адаптивных белков в экстремальных состояниях. Накопление глутамина как запасной формы азота оправдано отсутствием у него токсичности при возрастании концентрации. Приоритетным путем ассимиляции экзогенного азота являются функционирование системы реакций синтеза и переаминирования глутамина в кишечнике. При повышении уровня аммиака до 0,10 мг/дм<sup>3</sup> указанные процессы угнетаются и связывание аммиака в глутамин выполняет защитную детоксицирующую функцию. Следовательно, путем синтеза-распада глутамина под влиянием факторов среды в организме регулируется направленность азотного обмена и потоки метаболитов в отдельных органах. Поэтому содержание глутамина, а особенно соотношение скоростей его образования и распада, можно использовать как показатель метаболической эффективности клеток.

*Система поддержания гомеостаза аммиака в мозге животных.* Она является другим примером метаболической регуляции уровня аммиака [10]. В поддержании метаболического и кислотно-основного гомеостаза, а также в формировании адаптивного статуса нервной системы животных значительная роль принадлежит глутаминовой кислоте и глутамину. С одной стороны их обмен находится в центре взаимодействия превращений аминокислот и углеводов, с другой – превращение в системе глутамат–глутамин тесно связано с образованием и связыванием аммиака, который имеет исключительное значение в определении функциональной активности нервной системы [22]. Кроме того, глутамат является одним из основных нейромедиаторов, а его дезаминирование считается ведущим физиолого-биохимическим механизмом обеспечения нейромедиаторных функций в мозге [25]. Включение данных аминокислот в пластичные (синтетические) процессы, энергетический обмен или ориентация на формирование пула нейромедиаторов зависит от конкретных условий протекания и направленности реакций в нервных клетках. Последние у экзотермов существенно зависят от экологических факторов. Согласно [18] развитие аммиачной интоксикации в мозге рыб является сопрягающим эффектом любого неблагоприятного влияния среды.

Изучение функционирования исследуемой системы в сезонном аспекте дало возможность установить (табл. 4), что экстремальные факторы приводят к развитию в мозге рыб состояния устойчивой интоксикации аммиаком, который характеризуется повышением его уровня до 3,0–6,0 мкмоль/г ткани сравнительно с нормой, принятой для рыб 1,0–2,5 мкмоль/г

## ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

ткани [28]. Максимальное содержание глутаминовой кислоты в мозге карпа выявлено в июне – период активного питания рыб. Снижение содержания глутамата начинается в сентябре. Подтверждением вывода об усилении катаболизма аминокислот одновременно со снижением концентрации глутамата является возрастание содержания аммиака. В таком случае возможна переориентация потока глутамата из окислительного пути на детоксикацию аммиака. В зимние месяцы наблюдается увеличение содержания глутаминовой кислоты. Причиной этого является интенсивное аминирование 2-оксоглутарата с целью обезвреживания высокотоксичного, быстро образуемого в этот период за счет катаболизма аминокислот, аммиака. Известно, что наиболее тяжелым для выживания рыб является апрель – период выхода из зимовки. Содержание аммиака на фоне истощения составляет  $6,79 \pm 0,85$  мкмоль/г ткани, что в 2 раза выше, чем в зимние месяцы. Глутаминовая кислота в этот период используется и в детоксикации аммиака, и в синтетических процессах, направленных на биосинтез адаптивных белков.

Таблица 4

Влияние аммиака водной среды (14 суток) на содержание основных субстратов глутамат-глутаминового обмена в мозге карпа в разные сезоны года ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Месяцы	Условия, мг $\text{NH}_3/\text{дм}^3$			
	0,015	0,100	0,015	0,100
	Аммиак, мкмоль/г ткани		Глутамат, мкмоль/г ткани	
июнь	–	–	$6,70 \pm 0,58$	$2,71 \pm 0,29^*$
сентябрь	$8,11 \pm 0,83$	$8,86 \pm 0,74$	$0,36 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,05$
октябрь	$3,07 \pm 0,29$	$3,24 \pm 0,22$	$0,45 \pm 0,09$	$2,33 \pm 0,24^*$
ноябрь	$7,49 \pm 0,53$	$8,14 \pm 0,62$	–	–
декабрь	$4,50 \pm 0,45$	$5,39 \pm 0,51$	$1,18 \pm 0,12$	$0,66 \pm 0,08^*$
январь	$3,50 \pm 0,28$	$3,00 \pm 0,22$	$1,66 \pm 0,13$	$1,62 \pm 0,14$
апрель	$6,72 \pm 0,65$	$7,12 \pm 0,67$	$0,12 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,03^*$
	Глутамин, мкмоль/г ткани		$\alpha$ -кетоглутарат, мкмоль/100 г ткани	
июнь	$1,32 \pm 0,08$	$1,24 \pm 0,10$	–	–
сентябрь	$1,55 \pm 0,09$	$1,63 \pm 0,15$	$1,95 \pm 0,23$	$1,62 \pm 0,13$
октябрь	$1,63 \pm 0,07$	$2,09 \pm 0,04^*$	$1,81 \pm 0,13$	$1,49 \pm 0,12^*$
ноябрь	$2,05 \pm 0,17$	$2,73 \pm 0,19^*$	–	–
декабрь	$1,89 \pm 0,15$	$2,98 \pm 0,23^*$	$1,07 \pm 0,08$	$0,98 \pm 0,08$
январь	$1,35 \pm 0,10$	$1,46 \pm 0,11$	$1,28 \pm 0,10$	$0,66 \pm 0,06^*$
апрель	$1,59 \pm 0,14$	$2,03 \pm 0,19^*$	$0,27 \pm 0,05$	$0,09 \pm 0,02^*$

Примечания: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем ( $0,015$  мг  $\text{NH}_3/\text{дм}^3$ ); “–” – не определяли

Вероятно также ее участие в образовании нейромедиатора – гамма-аминомасляной кислоты, которая при значительном накоплении такого токсиканта как аммиак, запускает функционирование тормозных физиологических механизмов. Подтверждением приведенных выводов является динамика аммиака и глутамина в мозге рыб с февраля по апрель. Уменьшение концентрации глутамата в апреле сопровождается возрастанием их содержания в мозге рыб. Полученные данные коррелируют также со снижением в апреле содержания 2-оксоглутарата.

Анализ активности ферментов, которые обеспечивают взаимопревращение исследуемых субстратов, указывает на интенсивное амидирование глутаминовой кислоты в нервной ткани именно в период интенсивного образования в тканях рыб аммиака (табл. 5).

Влияние аммиака водной среды (14 сут) на активность основных ферментов глутамат-глутаминового обмена в мозге карпа в разные сезоны года ( $M \pm m$ ,  $p=6$ )

Месяцы	Условия, мг $\text{NH}_3/\text{дм}^3$			
	0,015	0,100	0,015	0,100
	Глутаминсинтетаза, нмоль Рi/мг белка мин		Глутаминаза, нмоль $\text{NH}_3/\text{мг}$ белка мин	
сентябрь	4,28±0,40	4,49±0,32	2,20±0,16	1,42±0,14*
октябрь	6,41±0,63	6,24±0,58	1,57±0,13	1,66±0,12
ноябрь	6,28±0,52	7,17±0,51	2,53±0,18	0,96±0,07*
декабрь	9,56±0,78	13,28±0,84*	2,83±0,22	2,74±0,21
апрель	8,16±0,73	15,68±1,02*	3,68±0,31	2,71±0,23*
	NADPH-глутаматдегидрогеназа, нмоль NADPH/мг белка мин		$\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа, нмоль $\alpha$ -кетоглутарата/мг белка мин	
сентябрь	20,12±1,15	19,34±1,23	4,20±0,41	4,64±0,39
декабрь	18,31±1,32	21,12±1,36	3,89±0,34	3,22±0,28
февраль	14,98±1,95	16,67±1,13	3,74±0,37	2,61±0,22*
апрель	20,98±1,95	22,87±2,40	6,96±0,60	4,76±0,48*

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем (0,015 мг  $\text{NH}_3/\text{дм}^3$ )

Если показатели сентября, когда в системе обмена глутамата и глутамина благодаря благоприятным биотическим и абиотическим факторам устанавливается равновесие, считать условным контролем, то в февральском увеличении активности глутаминсинтетазы в 2,7 раза приводит к увеличению содержания глутамина в 2,0 раза и к уменьшению концентрации аммиака в 2,6 раза. В другие месяцы такая тенденция сохраняется. Меньшее увеличение содержания глутамина по сравнению с интенсивностью снижения уровня аммиака объясняется возможностью выполнения им уникальных функций, связанных не только с детоксикацией аммиака, но и с участием в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аминокислот, нейромедиаторов и тому подобное. Касательно участия в детоксикации аммиака НАДН+Н<sup>+</sup>-глутаматдегидрогеназы, то выявленный нами эффект наибольшего уровня 2-оксоглутарата в сентябре подтверждает потенциальную роль восстановительного аминирования в этом процессе в течение зимовки. Это согласуется со снижением его уровня в мозге к окончанию зимовки и, особенно, в апреле, когда значительно, по сравнению с зимними месяцами, возрастает содержание глутаминовой кислоты и активность глутаматдегидрогеназы. При этом активность  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы, которая дальше превращает эту кетокислоту в цикле трикарбоновых кислот, также увеличивается. Поэтому можно предположить конкуренцию за субстрат между НАДН+Н<sup>+</sup>-глутаматдегидрогеназой и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназой, извлечение 2-оксоглутарата из ЦТК и ухудшения функционирования аэробного пути энергообеспечения мозга рыб. Опосредованно об этом свидетельствует снижение в апреле по сравнению с другими периодами года активности глутаминсинтетазы, которая является АТФ-зависимым ферментом. Кроме того, дихотомическое использование 2-оксоглутарата уменьшает продуцирование глутамата и глутамина, что приводит к увеличению содержания в мозге свободного аммиака.

Таким образом, анализ сезонных изменений основных показателей обмена в глутамат-глутаминовой системе подтверждает увеличение в процессе зимовки рыб в их мозге аммиака, глутаминазой и НАДН+Н<sup>+</sup>-глутаматдегидрогеназой активностей, снижение активности глутаминсинтетазы и содержания глутамату, а также поддержание в течение всего периода зимовки равномерно повышенных уровней глутамина. Это дает возможность констатировать многофункциональность указанных соединений, среди которых приоритетной является

детоксикация аммиака путем связывания, преимущественно в глутамат, и частично в глутамин, участие глутамата в энергетическом обеспечении мозга и, вероятно, его использование для синтеза нейромедиатора – ГАМК.

Полученные данные о значительной роли глутамат-глутаминовой системы обмена в мозге в адаптации к повышенным уровням аммиака в период зимнего стресса подтвердились при изучении влияния на рыб экзогенного аммиака. При действии повышенных его уровней в воде увеличения его содержания в мозге ни в одном из исследуемых месяцев не выявлено. Повышенным является уровень глутамата и глутамина. Противоположно изменяется содержание 2-оксоглутарата. В течение всего опыта аммиак не вызывал увеличения активности глутаминазы. Активность глутаминсинтетазы мозга при действии экзогенного аммиака достоверно возрастает только в декабре и апреле. Аналогичную тенденция показала глутаматдегидрогеназа. Активность  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы снижается. Поэтому можно констатировать извлечение аммиаком 2-оксоглутарата из ЦТК и активирование процессов его связывания в глутамат и глутамин. В целом, экзогенный аммиак вызывает эффекты, аналогичные тем, которые имеют место в зимние месяцы при повышении его уровня за счет внутриклеточных процессов.

В целом, реакции систем связывания аммиака в мозге рыб при повышение его уровня естественным или антропогенным путями направлены на обеспечение гомеостаза соединений азота в мозге рыб. Следует отметить высокую скорость образования и глутамата и глутамина без четко выраженной очередности их синтеза при участии соответствующих ферментов. Роль этих метаболитов заключается не только в регулировании уровня аммиака, но и в выполнении специфических функций, которые имеют исключительно важное значение в метаболизме мозга. Глутамин в условиях энергодифицитного состояния, вызванного токсикантом, имеет значение как дополнительный источник энергии, а глутамат выполняет нейромедиаторную функцию самостоятельно или путем участия в синтезе других нейромедиаторов, в первую очередь ГАМК. Поэтому уровень глутамата и глутамина в мозге, а также скорость их образования можно считать биомониторинговыми показателями благополучие функционального состояния нервной системы животных.

*Адаптивные изменения обмена липидов.* Относительно головного мозга, то еще одной определяющей метаболической системой обеспечения его физиолого-биохимического гомеостаза является состояние обмена липидов. Считается [22], что адаптация мозга к стрессовой нагрузке имеет два уровня: первый связан с метаболическими изменениями, которые усиливают функциональную активность нервных клеток (например, глутамат-глутаминовая система); второй уровень требует увеличения числа функционирующих клеток, то есть пролиферации. Эти принципиальные моменты формирования адаптивного ответа в значительной степени касаются метаболизма липидов. Последним принадлежит ведущая роль в обеспечении метаболического гомеостаза мозга рыб путем функционирования гемато-энцефалического барьера.

Нами исследован компенсаторно-адаптивный ответ организма на действие токсичных уровней тяжелых металлов, накопление которых в мозге может быть значительным [21, 38]. Для цинка и меди уровень металлов в воде 2 ПДК повышает их содержание в мозге животных на 40–120%. При уровне металлов в воде 5 ПДК наблюдали повышение содержания в мозге рыб на 10–20% меди, свинца и цинка. Не отмечено значительных отклонений от нормы в содержании свинца при его уровне в воде, соответствующему 2 ПДК. Следовательно, для проникновения в головной мозг ионов свинца существует определенный барьер, или функционируют механизмы ускоренного выведения токсиканта из нервной ткани.

Поступление ионов металлов в головной мозг рыб сопряжен с структурными изменениями в мембранах, функционированием ионных каналов мембран, которые, как известно, определяются формирующим микроокружением, в первую очередь липидными компонентами, которые являются мишенью для токсикантов. Поэтому серия наших исследований связана с изучением содержания липидных компонентов, их трансформационных изменений, которые отображаются в изменении соотношения отдельных фракций липидов [20, 21, 38]. Анализ полученных данных позволил предложить схему

адаптации липидов головного мозга карпа к действию ионов тяжелых металлов (рис. 5). Она позволяет выяснить, каким образом головной мозг карпа реализует систему защиты при интоксикациях с целью поддержания на оптимальном уровне метаболического гомеостаза на примере липидов.

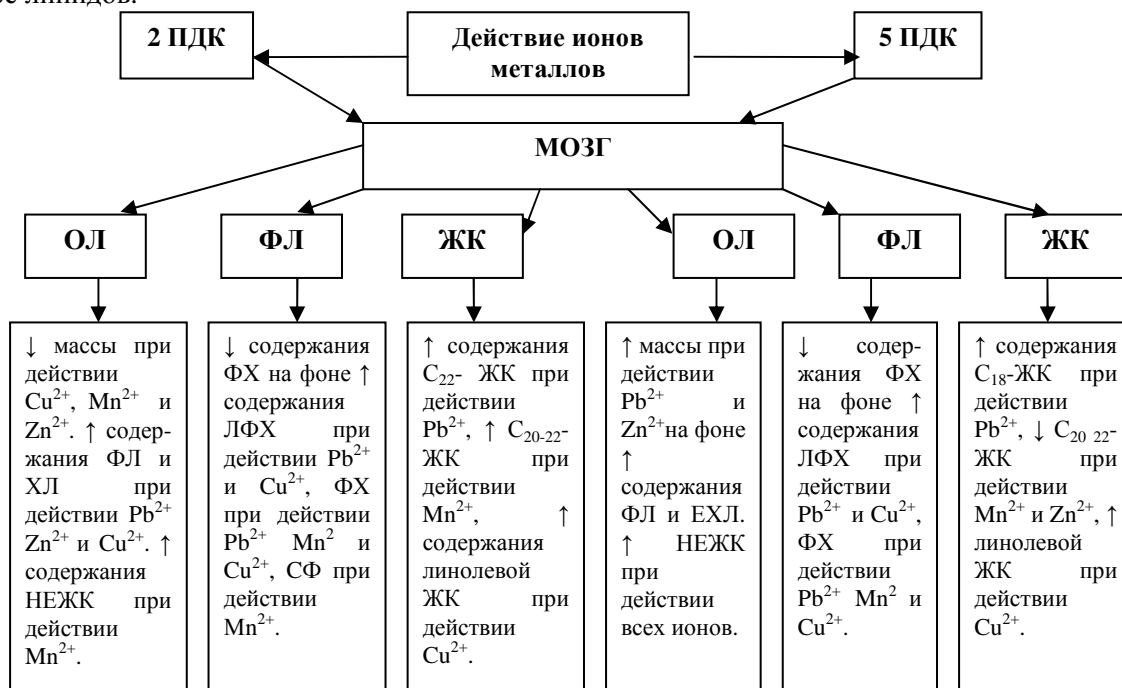


Рис. 5. Схема адаптации липидов головного мозга карпа при действии ионов тяжелых металлов

Примечания: ↑ - увеличение; ↓ - уменьшение; ОЛ – общие липиды, ФЛ – фосфолипиды; ЖК – жирные кислоты; ХЛ – холестерол; НЕЖК – неэтерифицированные жирные кислоты; ЛФХ – лизофосфатидилхолин; ФЕА – фосфатидилэтаноламин; ФХ – фосфатидилхолин; СФМ – сфингомиелин

Полученные данные свидетельствуют об увеличении содержания общих липидов в мозге при интоксикации ионами свинца и ионами цинка при 5 ПДК, а также достоверное уменьшение их количества при действии ионов марганца, меди цинка в концентрации 2 ПДК. Данные изменения приводят к уплотнению нейрональной мембраны, которая обеспечивает ее непроницаемость для этих токсикантов. Уменьшение массы общих липидов при 2ПДК свидетельствует об обеспечении энергетической функции в условиях токсичного стресса. Как выяснилось, увеличение массы общих липидов при действии ионов свинца, в первую очередь, связано с увеличением количества фосфолипидов в их составе. Эти данные согласуются с данными об интенсивности синтеза фосфолипидов как своеобразной защиты клеток организма от проникновения через их мембрану токсикантов. Достоверное увеличение количества фосфолипидов наблюдается также при наличии в воде ионов меди в концентрации 2ПДК.

Относительное содержание холестерина в головном мозге карпа значительно больше у опытных рыб сравнительно с контрольными при действии ионов свинца, цинка и меди в концентрации 2ПДК. Данные изменения сопровождаются снижением катионной проницаемости мембраны. Содержимое неэтерифицированных жирных кислот увеличивается при действии ионов металлов в концентрации 5 ПДК и ионов марганца при 2 ПДК.

Изучение изменений общей концентрации фосфолипидов в головном мозге рыб в условиях токсичного стресса показало, что при действии ионов свинца, меди и марганца уменьшается содержание фосфатидилхолина. Он является наиболее насыщенным фосфолипидом мозга рыб, соответственно, уменьшение его общего количества приводит к увеличению индекса ненасыщенности липидов нейрональных мембран. Снижение доли фосфатидилхолина можно объяснить изменением направленности синтеза фосфолипидов: во-первых, активацией синтеза фосфатидилэтаноламина (содержание последнего увеличивается при действии ионов свинца, марганца и меди при обеих концентрациях); во-вторых,



деградацией фосфатидилхолина с дальнейшим накоплением лизофосфатидилхолина и свободных жирных кислот (содержание лизофосфатидилхолина увеличивается при действии ионов свинца и меди). Уменьшение содержания фосфатидилхолина в мозге карпа при действии ионов марганца при 2 ПДК сопровождается увеличением содержания сфингомиелина, что может свидетельствовать об активации синтеза сфингомиелина из фосфатидилхолина.

Важным адаптивным свойством метаболизма в головном мозге рыб при действии токсикантов является способность к изменению жирнокислотного состава липидов [19]. Анализ содержания отдельных жирных кислот липидов мозга карпа свидетельствует, что при действии ионов свинца возрастает уровень ненасыщенности жирных кислот при 2 ПДК, в основном, за счет увеличения относительного содержания  $C_{22}$ -полиненасыщенных жирных кислот, а при 5 ПДК – кислот  $C_{18}$ -полиненасыщенного ряда. Такие десатурационные процессы рассматриваются как "мгновенная" акклимация, которая позволяет клеткам обеспечить увеличение уровня текучести мембран при экстремальных влияниях факторов среды. При действии солей марганца в концентрации 2ПДК в общих липидах мозга рыб увеличивается относительное содержание  $C_{20}$ - и  $C_{22}$ -полиненасыщенных жирных кислот наряду с уменьшением относительного содержания линолевой кислоты. При 5 ПДК имеет место уменьшение уровня кислот  $C_{20}$ - и  $C_{22}$ -рядов и увеличение количества линолевой кислоты. Из этих данных следует, что под воздействием ионов марганца превращения линолевой кислоты в более ненасыщенные жирные кислоты и использование их в синтезе липидов в мозге карпа при 5 ПДК, в отличие от 2 ПДК, снижается.

При действии ионов меди в концентрациях 2 и 5 ПДК выявлено увеличение относительного содержания линолевой кислоты, уменьшение содержания эйкозатриеновой, арахидоновой, эйкозапентаеновой, докозатриеновой и докозагексаеновой кислот. Данные изменения вызывают уменьшение интенсивности синтеза полиненасыщенных жирных кислот, предшественником которых является линолевая кислота. Ионы цинка при 5 ПДК вызывают увеличение уровня линолевой и линоленовой жирных кислот. Наряду с этим уровень жирных кислот  $C_{20}$ - и  $C_{22}$ - рядов достоверно уменьшается.

Таким образом, в целом в результате исследования установлено, что влияние ионов тяжелых металлов на организм карпа вызывает структурно-функциональные изменения липидов в мозге рыб, направленные на снижение проницаемости ионов металлов в нервные клетки, изменение метаболизма липидов в направлении их использования как энергетических субстратов, создания пула отдельных типов фосфолипидов и жирных кислот, которые участвуют в формировании энцефалического барьера защиты от физико-химического действия солей тяжелых металлов. Отмеченные изменения, особенно в обмене фосфолипидов и высших жирных кислот, можно рассматривать как биоиндикативные, а использованный интегральный подход из оценки липидного обмена в целом считаем объективным, эффективным и наглядным.

*Система белкового гомеостаза и белковые коэффициенты крови.* Наглядным интегральным показателем гомеостатического равновесия в организме животных при интоксикациях является фракционный состав белков крови. Исследование динамики изменений белков сыворотки крови карпа при интоксикации ионами тяжелых металлов показали, что белковая система крови является очень чувствительной к изменениям ионного состава водной среды [29, 30]. Характерно, что суммарная концентрация белков сыворотки крови карпа увеличивается под воздействием ионов марганца, цинка, свинца, и, особенно меди. Выявлено, что отклонение этого показателя от контроля возрастает с увеличением концентрации токсиканта. Для того, чтобы лучше проследить изменения, которые происходят с белками сыворотки крови за интоксикации ВМ, условно содержание белков в сыворотке крови рыб контрольной группы принимали за 100%, и изобразили на диаграмме вклад каждой из исследуемых фракций в общую сумму белков для каждой конкретной группы рыб (рис. 6).

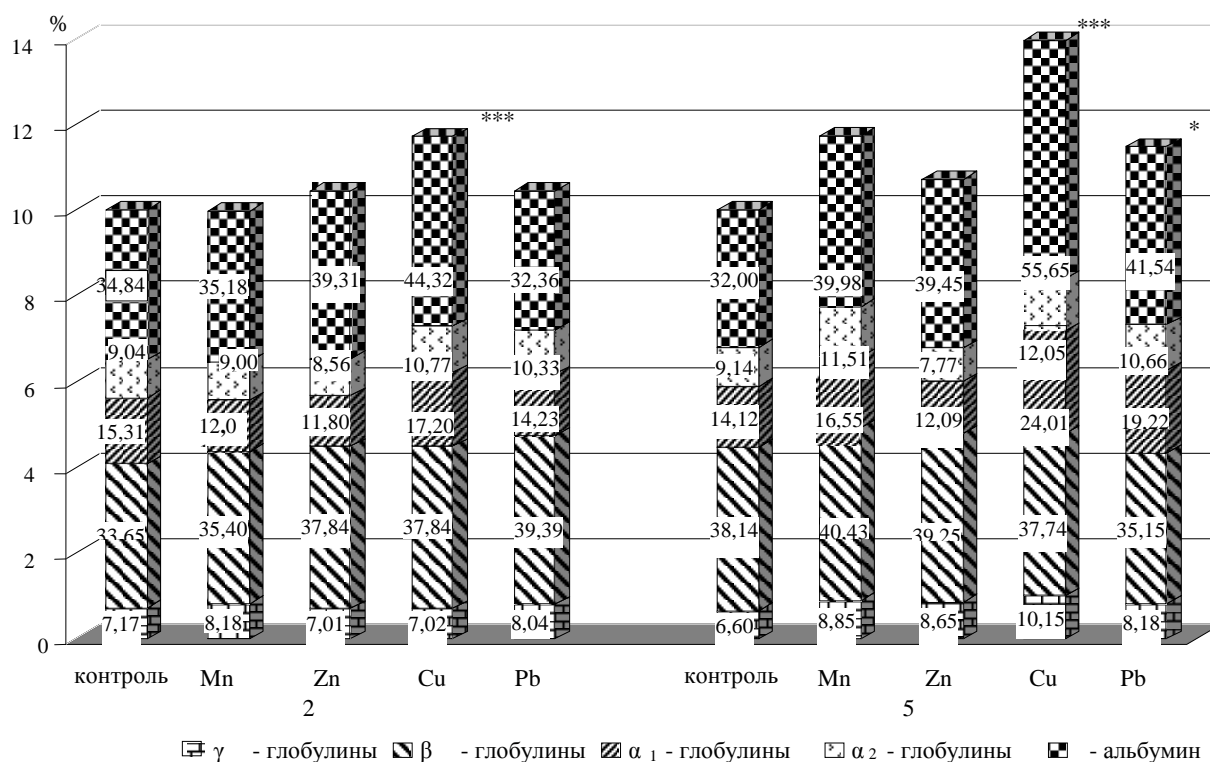


Рис. 6. Фракционный состав белков сыворотки крови карпа (% от суммарного количества белков у контрольной группы животных)

Достаточно давно установлена [15] возможность ошибочных суждений в оценке роли белков в адаптациях рыб на основе лишь абсолютного содержания белков отдельных фракций, поскольку трудно определить общее содержание белков крови в целом организме рыб из-за того, что объем крови постоянно изменяется. Если сравнить фракционное распределение белков сыворотки крови, выраженное в % от общего количества белков контрольной группы с их относительным распределением, выраженным в процентах к общему количеству белков каждой конкретной группы, приведенным на рис. 7, то видим, что доля белков альбуминовой фракции в первом случае при действии использованных для моделирования интоксикации металлов, кроме действия свинца при 2 ПДК, выше, чем во втором случае.

Следовательно, увеличение доли белков этой фракции относительно суммарного количества белков контрольной группы при действии марганца, цинка и меди в концентрациях, соответствующих до 2 и 5 ПДК, и свинца при 5 ПДК больше относительно суммарного количества белков данной группы, а снижение при 2 ПДК свинца меньше.

Если оценивать изменения, вызванные ионами исследуемых металлов во фракции α<sub>1</sub>-глобулинов, то процент относительно суммы белков контрольной группы больше. Если в случае действия 5 ПДК меди часть α<sub>1</sub>-глобулинов относительно общего количества белков данной опытной группы снижается, то относительно суммы белков контрольной группы доля белков этой фракции значительно увеличивается и является наибольшей среди исследуемых металлов за счет значительного роста общего содержания белков как в этом варианте опыта, так и при действии 2 ПДК меди.

Динамика изменений во фракции α<sub>2</sub>-глобулинов аналогична. Снижение содержания белков этой фракции при действии цинка и марганца является не таким значительным в процентном отношении к сумме белков контрольной группы по сравнению с показателем их доли относительно суммы белков сыворотки крови у рыб конкретной опытной группы. Кроме того, при 5 ПДК марганца белков этой фракции содержится больше, чем в норме.

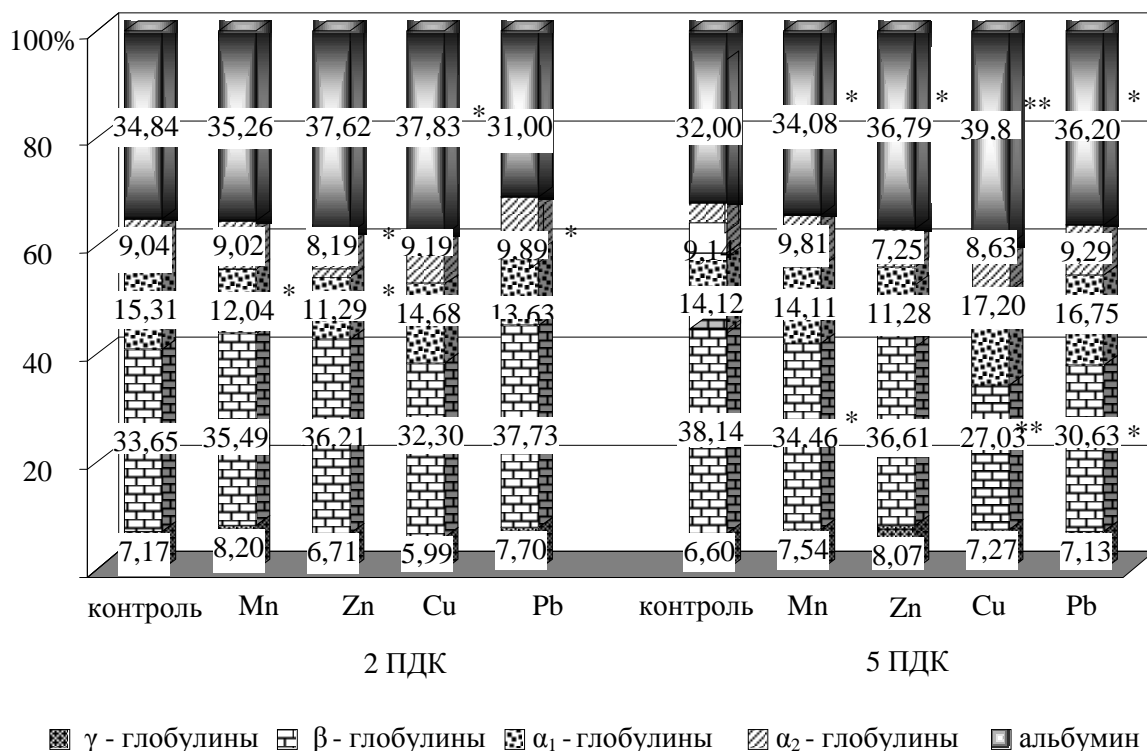


Рис. 7. Относительное содержание белков в сыворотке крови коропа в норме та при интоксикации (% от суммарного количества белков в каждой группе)

Относительно  $\beta$ -глобулинов, то доля белков этой фракции относительно общего содержания белков в сыворотке крови опытных групп рыб увеличивается при действии марганца, цинка и свинца в концентрациях, соответствующих 2 ПДК, а в остальных случаях – снижается. Особенно значительное снижение выявлено при действии меди в обеих концентрациях. Доля  $\beta$ -глобулинов, выраженная в процентах к сумме белков сыворотки крови контрольной группы, увеличивается при действии всех металлов при 2 и 5 ПДК.

Наконец, доли белков фракции  $\gamma$ -глобулинов в обоих выражениях имеют одинаковую направленность, преимущественно увеличивается, особенно при 5 ПДК. Кроме того, если доля этих белков от суммы белков данной пробы при действия 2 ПДК меди является самой низкой, то при использовании выражения процентов к сумме белков контрольной группы она более высокая, чем при действии цинка, а в случае 5 ПДК является наивысшей среди исследуемых групп рыб.

Из полученных данных вытекает, что общепринятый метод оценки реакции организма в виде изменений в распределении белковых фракций без учета изменений количества белков в нашем исследовании дал несколько заниженные результаты.

Таким образом, при сравнении содержания белков определенной фракции сыворотки крови опытных рыб с суммарным содержанием белков в сыворотке крови рыб контрольной группы получаем данные, которые подчеркивают участие белков сыворотки крови рыб в защитных процессах при интоксикации тяжелыми металлами.

Для диагностики состояния организма широко применяется такой показатель как альбумин-глобулиновый коэффициент (А/Г). Отношение содержания белков фракции альбуминов к белкам глобулиновых фракций увеличивается при действии ионов ВМ практически во всех случаях, кроме действия 2 ПДК свинца (табл. 6).

Видно, что при повышении концентрации токсиканта белковый коэффициент увеличивается. Наивысшее его значение выявлено при действия меди, а наименьшее отклонение от контроля вызывает действие марганца. Связав эти данные с транспортной функцией альбумина, можно предположить, что при интоксикации возрастает его транспортная активность.

Значения белкового коэффициента (А/Г) сыворотки крови карпа при действии ионов тяжелых металлов

Уровень токсичности	Контроль	Ионы			
		марганца	цинка	меди (II)	свинца
2 ПДК	0,50	0,55	0,60	0,61	0,45
5 ПДК		0,52	0,58	0,67	0,57*

Показательные данные нами получены также в токсикологическом исследовании белкового спектра классического биоиндикативного вида – дафнии (*Daphnia magna* Straus.). Как видно из данных, приведенных в табл. 7, при действии токсикантов в разных концентрациях происходило снижение альбумин-глобулинового коэффициента. Изменения в случае действия свинца были больше, чем в случае действия цинка. Это может быть связано с тем, что свинец, в отличие от цинка, не является биогенным элементом, и может ингибировать синтез белков.

Таблиця 7

Альбумин-глобулиновый коэффициент при интоксикации *Daphnia magna* Straus ионами цинка и свинца

Условия	Экспозиция 24 часа		Экспозиция 72 часа	
	2 ПДК	5 ПДК	2 ПДК	5 ПДК
Контроль	0,55		2,34	
Цинк	0,43	0,43	3,33	2,15
Свинец	0,34	0,31	3,80	4,13

Однако, при экспозиции 72 часа, в течение которых дафний не кормили, нормальный показатель альбумин-глобулинового коэффициента значительно увеличился – в 4 раза. Следовательно, при нагрузке на организм (даже при голодании, которое также является стрессом) альбумин-глобулиновый коэффициент увеличивается. При действии повышенных концентраций цинка и свинца происходит еще значительное его увеличение (за исключением действия цинка в количестве 5 ПДК). В случае действия свинца как небιοгенного элемента увеличение А/Г было тем больше, чем выше концентрация ионов металла.

Как видно из табл. 8, при действии бензина и СПАВ в разных концентрациях происходило снижение альбумин-глобулинового коэффициента. В случае фенола при концентрации 2 ПДК происходит снижение альбумин-глобулинового коэффициента, а при концентрации 5 ПДК его значение значительно увеличивалось в 1,5 раза.

Таблиця 8

Альбумин-глобулиновый коэффициент при интоксикации *Daphnia magna* Straus бензином, СПАВ и фенолом

Токсикант	Уровень токсичности	
	2 ПДК	5 ПДК
Контроль	0,47	
Бензин	0,41	0,23
СПАВ	0,32	0,22
Фенол	0,37	0,54

Полученные данные изменения белкового коэффициента могут быть использованы для дифференциации токсичности природы и концентрации токсиканта.

Известно, что снижение содержания преальбумина, которое мы наблюдаем во всех случаях, свидетельствует о белковой недостаточности организма. Степень влияния токсикантов на этот показатель удобно было бы оценивать по соотношению преальбумин/белки других фракций по аналогии с альбумин-глобулиновым коэффициентом.

## ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

Как видно из табл. 9., в отличие от альбуминового коэффициента, в двух вариантах опыта этот показатель в контроле остается стабильным. При действии как цинка, так и свинца, в обеих концентрациях происходит снижение исследуемого показателя.

Таблица 9

Преальбуминовый коэффициент при интоксикации *Daphnia magna* Straus ионами металлов

Условия	Экспозиция 24 часа		Экспозиция 72 часа	
	2ПДК	5ПДК	2ПДК	5ПДК
Контроль	0,25		0,27	
Цинк	0,16	0,17	0,05	0,05
Свинец	0,15	0,16	0,05	0,06

При экспозиции в течение 24 часов этот показатель снижается на треть от контроля независимо от металла и его концентрации. В случае экспозиции 72 часа исследуемый коэффициент снижается уже в 5 раз и также не зависит от токсиканта и его концентрации. Предложенный подход позволяет сделать общий вывод о состоянии белкового обмена в организме. Значительное снижение преальбуминового коэффициента при экспозиции 3 суток дает возможность считать, что действие тяжелых металлов в исследуемых концентрациях вызывает исчерпание белковых ресурсов, которые используются в адаптивно-защитных реакциях организма.

Как видно из табл. 10, при действии органических веществ (за исключением действия бензина при 2 ПДК) снижение преальбуминового коэффициента, в отличие от действия ионов металлов, зависит от типа токсиканта и его концентрации.

Таблица 10

Преальбуминовый коэффициент при интоксикации *Daphnia magna* Straus бензином, СПАВ и фенолом

Условия	Уровень токсичности	
	2ПДК	5ПДК
Контроль	0,35	
Бензин	0,4	0,26
СПАВ	0,2	0,03
Фенол	0,23	0,15

На основании полученных данных и их научно-теоретической и практической интерпретации рекомендуем ряд выявленных эффектов как биоиндикативные показатели оценки интоксикаций гидробионтов и качества воды [31].

Приведенные факты свидетельствуют о том, что для оценки ответа белковой системы сыворотки крови на интоксикацию ионами тяжелых металлов следует применять интегральный подход с учетом возможных факторов изменений фракционного состава белков. Отмеченные подходы позволяют осуществлять оценивание токсичного поражения не за одним индикативным показателем, а за счет анализа системных нарушений, который отображает глубину повреждений более объективно и нагляднее, чем при традиционных подходах (определения накопления (концентрации) токсиканта в биологической системе).

В целом, изменения в биологических системах, вызываемые токсикантами, выявляются в: нарушениях метаболизма в клетках (генетическая или модификационная детерминация); структурных повреждениях молекул и мультимолекулярных образований, которые приводят к необратимым функциональным изменениям и увеличению количества неполноценных молекулярных и надмолекулярных новообразований; недостаточном снабжении клеток энергетическими и восстановительными эквивалентами и предшественниками биосинтеза; нарушении систем, которые регулируют скорость и направленность метаболических процессов; нарушении взаимодействия макромолекул, клеток, тканей и органов, увеличении количества случайных и нерегулируемых взаимодействий; нарушении физиологических

функций органов и систем, в первую очередь гомеостаза и энантиостаза (постоянство состояния, поддержание уровня функций). Физиолого-биохимическую активность, которая определяет барьерную и детоксикационную функции клеток, обеспечивают субстратный баланс, направленность и скорость метаболических превращений, регулируемых состоянием субстрат-энергетического баланса. Осуществляет этот процесс комплексная, целостная структурно-функциональная системы гепато- и гемато-энцефалического барьеров.

Отмеченные подходы позволяют оценивать токсичное поражение не по одному индикативному показателю, а на основе учета системных нарушений, которые отображают глубину повреждений более объективно и нагляднее, чем при традиционных подходах.

Приведенные примеры подтверждают, что при длительном воздействии фактора (-ов) возникают новые приспособления организмов (континуальный переход), которые постоянно развиваются, закрепляются и вследствие этого в измененных экологических условиях новые свойства приобретают и биологические системы (популяции, виды, биоценозы, экосистемы, биосфера). Протекает так называемый процесс адаптации.

Согласно с современными представлениями *адаптация* – это совокупность физиолого-биохимических, анатомо-морфологических и макробиологических изменений в сообществах, которые приводят к видоизменениям организма и надорганизменных биологических систем в направлении улучшения их шансов на выживание и воспроизведение в данных условиях среды [36, 37, 40]. Поскольку основной целью биологической системы является обеспечение достаточного уровня энергетического (термодинамического) и трофического статуса, биологического разнообразия, целостности и сбалансированности функционирования – в целом эквивалентности, а также способности к самовоспроизведению, то главной задачей адаптации является поддержание этих основных показателей в биологических системах на достаточном для самообеспечения и увеличение уровня функционирования в измененных условиях среды. Следовательно, адаптация решает проблему поддержания структуры и физиологических функций органов и систем в изменяющихся условиях, в первую очередь общего гомеостаза (постоянство состава) и энантиостаза (постоянство функций). Авторы ряда фундаментальных работ [36, 37, 40] склоняются к мысли, что в адаптации более важно не столько сохранение постоянства состава, сколько – постоянство функции (-ий). Поэтому, например, накопление некоторых токсичных веществ в инкапсулированном состоянии (карбонат свинца), которое не вызывает изменений функций органов, можно считать малоопасным, а инкапсуляцию – морфо-структурной адаптацией.

Самосохранения организмов и их сообществ осуществляется с помощью механизмов адаптации, которые в общем эволюционном процессе в новых экологических условиях обеспечивают приобретение биосистемами новых качеств (дискретных состояний) [9]. Процессы приспособления организма к токсикантам достаточно разнообразны. Все они направленные на сохранение жизнедеятельности особей и их сообществ. Разнообразные реакции особей на экстремальное влияние имеют приспособительное значение. Процессы приспособления находят свое проявление в изменениях биохимических, биофизических, физиологических, поведенческих и других функций. Возможности индивидуальной (физиологической) приспособляемости ограничены, наследственно закрепленными пределами экспрессии генома. Каждая особь имеет свой потенциал приспособления. В системе взаимодействий из токсикантами приспособляемость организма достигается на основе нормы реакций. Организм в условиях незначительных изменений среды переходит от одного состояния приспособления к другому через цепи процесса приспособления (континуальные переходы). Механизмы, которые обеспечивают приспособляемость особей и сообществ к изменениям среды (в частности токсичной), разные. Разнокачественность особей в популяции обеспечивает ей более широкие возможности приспособляться, чем возможности каждой отдельной особи. Расширение эффективности приспособления популяций осуществляется за счет элиминации наиболее чувствительных к данному токсиканту особей [35].

Адаптация является количественным и временным процессом (рис. 8). Поэтому уместно выделять уровни и скорость адаптации. Формирование определенного уровня адаптации, как правило, зависит от длительности действия фактора.

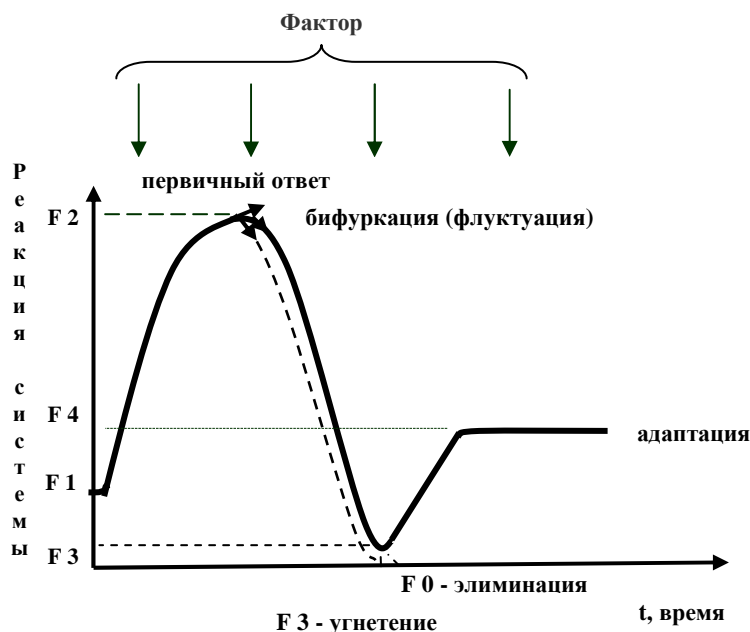


Рис 8. Динамика адаптационного процесса

В процессе развития адаптивного ответа сначала имеет место период привыкания – F1 (рецепция и афферентный анализ сигнала факториального действия), после которого быстро формируется первичная реакция системы за счет имеющихся у нее пластических и энергетических ресурсов (F2), что происходит, как правило, на фенотипическом уровне в пределах нормы реакции. При этом уровень активности системы относительно начального состояния значительно увеличивается (в десятки или и сотни раз). Поскольку в состоянии сверхвысокой активности в системах, включительно в биологических, значительно активируются флуктуационные процессы, развитие процесса в этом состоянии может осуществляться многовариантно (бифуркационно).

Все системы содержат подсистемы, которые непрерывно флуктуируют [24]. Когда говорят о флуктуациях, то имеют в виду распределение какой-то величины, а задано значение (флуктуация) ее отклонения от предыдущего. При этом числовая многовариантность параметров может быть следствием гармоничных составляющих колебательных процессов – колебания, а при экстремальных состояниях может также носить асимметричный и сначала хаотический характер – флуктуации. Если система находится вблизи точек бифуркации, то ее неустойчивость вызывает повышенную чувствительность к флуктуациям, в результате чего система переходит из одного стационарного состояния в другое – изменение динамических состояний вследствие континуального процесса. Поскольку в экологических системах существует нелинейность внутренних связей, то в отличие от линейных систем, для которых существует одно стационарное состояние, для нелинейных – их несколько. Дисперсия величин, вместе с изменениями средних показателей переменных процессов определяют механизм приспособления организма (экосистемы) к переменным условиям среды. Считается, что чем больше параметрическая амплитуда инвариант, тем легче (качественнее) происходит адаптация. По мнению П.К. Анохина, чем меньше диапазон отклонений жизненно важных констант организма (биосистемы – авт.), тем больше они пригодны для строгого поддержания адекватной для них функции, и наоборот, чем пластичнее константа организма (биосистемы – авт.), тем большему количеству других функций служит их отклонение как приспособительный фактор [2]. Поэтому после состояния F2 истощения быстро мобилизованных ресурсов значительно снижается функциональная активность системы до уровня, ниже начального. В дальнейшем система при продолжении действия неблагоприятного фактора или элиминируется (состояние F0), или за счет мобилизации “глубинных” ресурсов (структурно-функциональная перестройка пластического и энергетического обеспечения) выходит на новый стабильный уровень функциональной активности, то есть формирует адаптацию, как правило, за счет имеющихся и новоформированных генетических ответов (состояние F4). Поэтому динамика

адаптационного процесса имеет синусоидный характер, а изменение функциональной активности образует ряд:  $F1 < F2 > F3 < F4$ .

Исходя из отмеченного, выделяют уровни адаптации:

1. *Мгновенный ответ*. Осуществляется путем модуляции структур и энергетических и трофических ресурсов, которые имеются в биосистеме на момент влияния. Первая линия защиты биосистем от действия неблагоприятных факторов. Иногда мгновенный ответ считают адаптацией и называют ее “мгновенной адаптацией”. На наш взгляд, поскольку она осуществляется как результат реализации имеющихся структурно-функциональных возможностей (действующих адаптаций), приобретенных биосистемой раньше, качественно новой адаптацией в полной мере ее считать нельзя, разве что новыми являются, как результат инициации флуктуационного процесса, структурно-функциональные изменения в организации системы и формирования состояния таких функциональных вариант взаимодействий адаптивных структур, которые не функционировали таким способом (в такой структуре) раньше, то есть имеет место процесс континуальной детерминации. Однако такое изменение на начальном этапе реакции нельзя считать завершенным (следующее дискретное состояние не достигается), в связи с чем суммарный ответ является “неполным”, не является новым адаптивным состоянием, а лишь континуальным процессом реализации возможностей предыдущего дискретного состояния. Адаптивные свойства системы, если действие фактора не критично для того, чтобы вызвать внутренний анализ и обратную реакцию в ней, в результате первичного ответа, как правило, существенно не изменяются, а лишь возвращаются к исходному состоянию.

2. *Акклимация и акклиматизация*. Долговременные изменения в организме, связанные с индукцией синтеза новых белков, структурной перестройкой фосфолипидов мембран и тому подобное. Характерными примерами является синтез в ответ на действие факторов (включительно токсичных) новых (адаптивных) изоферментов [6, 23, 37, 40], или структурно-функциональная перестройка мембран клеток [38]. Акклиматизация и акклимация протекают на фенотипическом уровне с использованием генетической информации, присутствующей в организме или накопленной в популяции на данный момент.

3. *Генетическая адаптация*. Адаптивный процесс осуществляется на протяжении нескольких поколений. При этом происходят мутации регуляторных генов, изменяется количественный и качественный состав макромолекул, появляются изозимы, ферменты новых типов, возникают новые специфические макромолекулы.

## Выводы

Таким образом, рассмотренные закономерности позволяют акцентировать внимание по крайней мере на двух аспектах:

- 1) в мониторинговых и индикационных исследованиях в первую очередь требует четкой констатации (определения) наличие (развитие) состояния адаптации, поскольку много исследователей считают адаптацией любое изменение (отклонение) показателей от условной нормы (контроля), хотя такое отклонение может быть первичным ответом (мгновенная реакция) на действие фактора (-ов), одним из флуктуационных изменений (поэтому часто в экотоксикологических исследованиях невозможно достичь стабильности и повторяемости исследуемого показателя), внутренней реакцией системы по типу обратной связи или показателя состояния угнетения системы;
- 2) критериями адаптирования (формирование адаптивных функций системы) могут быть только такие количественные и качественные изменения, которые развивают в био-, эко-системе новые свойства, сформированность которых является результатом эквифинальности этой же системы.

Вместе с тем, при этом важным в биологической оценке токсичности является использование так называемых адаптивных показателей. Как правило, к ним относят любые очевидные изменения физиолого-биохимического или морфо-функционального статуса организмов или их сообществ, которые возникают в результате токсичного действия. Однако исследователи практически не задаются вопросом, в какой точке континуальности (развития) адаптации зарегистрирован этот показатель, однако – это мог быть первичный ответ системы, флуктуационные варианты реакции (минимумы, максимумы или промежуточные состояния



амплитуды реакции), точка угнетения или даже состояние элиминации организмов (их сообществ), или их действительный новый адаптивный статус, который может быть незначим для обеспечения выживания организма и вида.

Отмеченное позволяет рассматривать как дискуссионный вопрос о полной объективности процедуры лабораторной биоиндикации токсичности на основе показателей, получаемых в течение 24, 48, 72 или 96 час., даже у видов с кратковременным жизненным циклом, потому что этого времени может быть недостаточно для формирования и отображения адаптивных возможностей организмов и их сообществ. Существует подход, который в последнее время используется очень часто [3, 5, 13, 14, 16, 29 и др.], когда в основу положен тезис о том [7, 36], что для формирования адаптивного ответа на действие токсикантов достаточно 14 суток экспозиции организмов в экспериментальной среде. Поэтому в экспериментах используют длительность экспозиции организмов в токсичной среде 3, 7, 10, 14, реже 21 и более суток с той целью, чтобы проследить динамику развития адаптационного процесса на всех стадиях его формирования. Экспериментально показано, что в определенной мере такой подход оправдан, однако у организмов разных видов, а часто у одних и тех же организмов разной стати и возрастных групп, в зависимости от сезона года и др. условий формирование адаптивного ответа во времени различное, особенно при адаптациях “эксплуатативного типа”, которые могут формироваться не только сутками, но и месяцами, годами, десятками и более лет [37, 40]. Поэтому интерпретировать экспериментальные данные токсикологических и экотоксикологических исследований с позиций адаптации, на наш взгляд, корректно лишь в случае получения комплексной (интегральной) картины долговременных структурно-функциональных изменений, возникающих как результат действия токсиканта (-ов), которые не привели к системным нарушениям биологической успешности (биопотенции) организмов и их сообществ, и доведя их закрепление в биосистеме как определенного нового дискретного состояния сравнительно с предыдущим стационарным состоянием. В ином случае исследователь пользуется параметрическими характеристиками континуального процесса.

1. Агошкова Е. Б. Эволюция понятия системы / Е. Б. Агошкова, Б. В. Ахлибининский // Вопр. философии. – 1998. – № 7. – С. 170–179.
2. Анохин П. К. Теория функциональной системы / П. К. Анохин // Успехи физиол. наук. – 1970. – Т. 1, № 1. – С. 19–54.
3. Арсан О. М. Состояние и перспективы развития водной экотоксикологии / О. М. Арсан // Гидробиол. журн. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 50–64.
4. Водна рамкова директива ЕС 200/60/ЕС. Основні терміни та їх визначення. – К., 2006. – 240 с.
5. Гандзюра В. П. Продуктивність біосистем за токсичного забруднення середовища важкими металами / В. П. Гандзюра. – К. : ВГЛ “Обрії”, 2002. – 248 с.
6. Грубінко В. В. Адаптивні реакції риб до дії аміаку водного середовища : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 03.00.17 “Гідробіологія”; 03.00.04 “Біохімія”. – К., 1995. – 44 с.
7. Грубінко В. В. Каскадный принцип организации биохимической адаптации у рыб : шкала времени, интенсивности, специфичности / Экологическая физиол. и биохим. рыб. – Ярославль, 2000. – Т. 1. – С. 71.
8. Грубінко В. В. Интегральна оцінка токсичного ураження у біологічних системах / В. В. Грубінко // Наук. запис. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біол. Спец. випуск „Гідроекологія”. — 2005. — № 3(26). — С. 111—114.
9. Грубінко В. В. Принципи описання стану біо-, еко- систем / В. В. Грубінко // Наук. запис. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біол. Спец. випуск „Гідроекологія”. – 2010. – № 2(43). – С. 123–136.
10. Грубінко В. В. Роль глутамат-глутамінового перетворення в регуляції гомеостазу в мозку екзотермних тварин за стрес-дії факторів зовнішнього середовища / В. В. Грубінко, В. О. Арсан // Екологічна фізіологія. – 1998. – № 1. – С. 13–18.
11. Грубінко В. В. Енергетичний статус організму риб за інтоксикації аміаком / В. В. Грубінко, В. О. Арсан, І. М. Коновець // Наук. зап. Терноп. держ. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2001. – № 2(13). – С. 19–37.
12. Грубінко В. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у рыб(обзор) / В. В. Грубінко, Ю. В. Леус // Гидробиол. журн. – 2001. – Т. 37, № 1. – С. 64–78.

13. Жиденко А. О. Морфофізіологічні адаптації різновікових груп *Cyprinus carpio* L. за несприятливої дії екологічних факторів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук: спец. 03.00.16. "Екологія" / А. О. Жиденко. – Одеса, 2009. – 39 с.
14. Киричук Г. Є. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації прісноводних молюсків до зміни біотичних та абіотичних чинників водного середовища : автореф. Дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук: спец. 03.00.17. "Гідробіологія" / Г. Є. Киричук. – Київ, 2011. – 41 с.
15. Кирсипуу А. О белковых фракциях сыворотки крови : автореф. дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. Наук : спец. 03.00.04 "Биохимия" / А. Кирсипуу. – Тарту, 1965. – 28 с.
16. Курант В. З. Роль білкового обміну в адаптації риб до дії іонів важких металів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 03.00.10 "Іхтіологія" / В. З. Курант. – К., 2003. – 43 с.
17. Леус Ю. В. Прооксидантно-антиоксидантний статус організму карпа при действии ионов меди, марганца, свинца и цинка / Ю. В. Леус, В. В. Грубинко, В. О. Арсан // Доповіді НАН України. – 1998. – № 7. – С. 155–159.
18. Лукьяненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии / В. И. Лукьяненко. – М. : Агропромиздат, 1987. – 239 с.
19. Маньора Г. Б. Адаптивні перебудови жирнокислотного складу мозку риб за умов дії свинцю / Г. Б. Маньора, В. В. Грубінко // Доповіді НАН України. – 2003. – № 11. – С. 167–170.
20. Маньора Г. Б. Вплив іонів марганцю і міді на жирнокислотний склад ліпідів мозку риб: сезонні особливості / Г. Б. Маньора, В. В. Грубінко // Біологія тварин. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 112–117.
21. Маньора Г. Б. Динамика липидного состава мозга рыб при интоксикации ионами тяжелых металлов / Г. Б. Маньора, В. В. Грубінко // Гидробиол. журн. – 2004. – Т. 40, № 5. – С. 49–56.
22. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф. З. Меерсон. – М. : Наука, 1981. – 277 с.
23. Патент 94043414 України. Спосіб оцінки токсичного забруднення водного середовища аміаком / В. В. Грубінко, І. М. Коновець, О.М. Арсан [і ін.]. Заявник і патентотримач І-т гідробіології НАН України. Опубл. 17.03.1998. – 7 с.
24. Пригожин И. Порядок из хаоса: новый диалог с природой / И. Пригожин, И. Стенгерс. – М., Прогресс, 1986. – 432 с.
25. Розанов А. Я. Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях / А. Я. Розанов, А. И. Трещинский, Ю.В. Хмелевский. – К. : Наукова думка, 1985. – 208 с.
26. Романенко В.Д. Основы гидроэкологии / В. Д. Романенко. – К. : Генеза, 2004. – 664 с.
27. Романенко В. Д. Механизмы температурной акклимации рыб / В. Д. Романенко, О. М. Арсан, В. Д. Соломатина. – К. : Наукова думка, 1991. – 192 с.
28. Руссо Р. К. Токсичность аммиака и метаболизм у рыб / Защита речных бассейнов, озер и эстуариев от загрязнения / Р. К. Руссо, Д. Рендалл, Р. Турстон. – Л. : Гидрометеиздат, 1989. – С. 192–210.
29. Синюк Ю. В. Обмін амінокислот і фракційний склад білків у організмі коропа за дії іонів марганцю, цинку, міді та свинцю : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.04 "Біохімія". – Львів, 2004. – 19 с.
30. Синюк Ю. В. Влияние тяжелых металлов на качественный и количественный состав белков сыворотки крови карпа / Ю. В. Синюк, В. З. Курант, В. В. Грубинко // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 39, № 3. – С. 56–64.
31. Синюк Ю. В. Фракційний склад білків *Daphnia magna* Straus за дії іонів важких металів / Ю. В. Синюк, О. В. Синюк, І. М. Коновець, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терн. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. Спец. випуск "Гідро екологія". – 2005. – № 3(26). – С. 395–397.].
32. Система. Симметрия. Гармония / Под ред. В. С. Тюхтина, Ю. А. Урманцева. – М. : Мысль, 1988. – 318 с.
33. Сорвачёв К. Ф. Основы биохимии питания рыб / К. Ф. Сорвачев. – М. : Лёгк. и пищ. пром-сть, 1982. – 247 с.
34. Столяр О. Б. Інтегральний показник антиоксидантно-прооксидантного стану організму як інструмент біомолекулярного моніторингу / О. Б. Столяр, В. В. Грубінко, Н. Г. Зіньковська [та ін.] // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 54. – С. 66–68.
35. Строганов Н. С. Понятия нормы и патологии в водной токсикологии / Н. С. Строганов // Всесоюз. симп. "Норма и патология в водной токсикологии". Байкальск, 1977 г. : тез. докл. – Байкальск, 1977. – С. 5–11.
36. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Л. : Наука, 1981. – 135 с.
37. Хочачка П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М. : Мир, 1988. – 568 с.
38. Чайковська Г. Б. Адаптивні реакції головного мозку коропа при дії іонів важких металів / Г. Б. Чайковська, В. В. Грубінко // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер. Біол. – 2006. – № 2. – С. 103–107.

39. *Directive 2000/60/EC* of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy // Official J. European Communities. – L. 327, 22.12.2000. – 72 p.
40. *Hochachka P. W.* Biochemical Adaptation: Mechanism and Process in Physiological Evolution / P. W. Hochachka, G. N. Somero. – New York-London : Oxford University Press US, 2002. – 466 p.

*V.V. Grubinko*

Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, Україна

### СИСТЕМНИЙ ПІДХІД У ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІЙ ОЦІНЦІ ТОКСИЧНОСТІ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

У статті розглядається проблема фізіолого-біохімічної оцінки токсичності водного середовища для гідробіонтів з точки зору системного уявлення про організацію біологічних систем. Автор, опираючись в основному на результати власних досліджень, пропонує ряд метаболічних підходів і коефіцієнтів, розрахованих на підставі аналізу механізмів забезпечення метаболічного гомеостазу в організмі гідробіонтів для оцінки їх благополуччя в токсичному водному середовищі. Зроблений висновок про те, що в організмі гідробіонтів функціонують деякі метаболічні системи (аденілатна, нікотинамідна, глутамат-глутамінова, енергетична, ліпідна енцeфалічна, білкова сироватки крові та ін.), які формують токсикорезистентність водних організмів як їх еквіфінальну функцію як біологічних систем.

*Ключові слова:* фізіологічні і біохімічні показники, гідробіонти, токсичність, системна оцінка, водне середовище

*V.V. Grubinko*

Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ukraine

### APPROACH OF THE SYSTEMS IS IN PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ESTIMATION OF TOXICNESS OF AQUATIC ENVIRONMENT

In the article the problem of physiological and biochemical estimation of toxic of aquatic environment is examined for aquatic lives from the point of view of system idea about organization of the biological systems. Author, leaning mainly against the results of own researches, the row of metabolic approaches and coefficients, expected on the basis of analysis of mechanisms of providing of metabolic homoeostasis in the organism of fishes for the estimation of their prosperity in a toxic aquatic environment offers. Drawn conclusion that some metabolic systems (adenilate, nicotinamide, glutamate-glutamine metabolism, energetic status, lipid brain status, protein system in the serum of blood and other) which form toxicoresistence of aquatic organisms as a equifinalic function of these organisms as biological systems function in the organism of aquatic lives.

*Keywords:* physiology and biochemical indexes, aquatic organisms, toxic, system estimation, aquatic environment

Рекомендує до друку

Надійшла 15.02.2013

В.З. Курант