

ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ РЕАЛЬНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ МЕТАЛІВ МІЛІТАРНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ВОДНІ ОРГАНІЗМИ

У статті проведено екотоксикологічну оцінку впливу реальних концентрацій металів мілітарного походження (цинку (Zn), стронцію (Sr) і міді (Cu) та їх сумішей із літієм (Li), стибієм (Sb) і кадмієм (Cd)) на гідробіонтів на прикладі коропа (*Cyprinus carpio*) в умовах *in vitro*. Спостережено підвищення рівня перекисного окислення ліпідів за дії стронцію і цинку та окисних модифікацій протеїнів за дії міді, цинку та суміші металів, що вказує на посилення окисного стресу. Активність каталази і глутатіонтрансферази практично не залежали від типу металів, що свідчить про лабільність метаболізму та ефективні адаптаційні реакції організму на токсичний вплив. Зменшення рівня глутатіону за дії сумішей металів вказує на потенційне виснаження антиоксидантних резервів. Відмінності в активності каспази-3 дозволило оцінити апоптотичні процеси, а зміна активності ацетилхолінестерази у більшості варіантів досліджу свідчить про порушення передачі нервових імпульсів між нейронами за дії металів як окремо, так і у суміші.

Отримані дані є важливими для розуміння впливу військових забруднень на водні екосистеми та можуть бути використані для розробки екологічних нормативів і стратегій зменшення наслідків забруднення металами.

Ключові слова: гідробіонти, токсичність, метали, мілітарне забруднення.

Збройні конфлікти та військова діяльність призводять не лише до руйнувань інфраструктури та втрат людських життів, але й мають довготривалий вплив на навколишнє середовище [17, 22]. У лютому 2014 року росія розпочала агресію проти України, яка у 2022 році переросла у повномасштабне вторгнення, що триває й досі. Внаслідок бойових дій українська територія зазнала забруднення через залишки військової техніки, використані боєприпаси та вибухові речовини, що змінюють склад ґрунтів і водойм екосистем, завдаючи шкоди біорізноманіттю та знижуючи біопродуктивність екосистем [10, 25].

Відомо, що розпад матеріалів військового походження сприяє потраплянню важких металів та їхніх сполук у навколишнє середовище, зокрема у водні екосистеми [5, 24]. Однак кількості цих металів у водоймах, особливо в умовах збройних конфліктів, залишаються недостатньо вивченими [8]. З огляду на зазначене, з літературних джерел було зібрано дані про концентрації металів у водоймах, що могли зазнати впливу військової діяльності. Навіть у випадку, коли водойми не постраждали безпосередньо від бойових дій, відсутність належного контролю через близькість території до останніх може призвести до збільшення концентрацій небезпечних сполук.

Метали, що досліджувалися у цій роботі, були вибрані з урахуванням їх потенційного токсичного впливу та знайдених концентрацій у водоймах поблизу воєнних подій. У рамках аналітичного огляду стану водних ресурсів у лютому 2023 року у районі суббасейну нижнього Дніпра були зафіксовані перевищення концентрацій Cu (51 мкг/дм^3) та Cd ($1,9 \text{ мкг/дм}^3$) [3]. У басейні річки Сіверський Донець, зокрема у річці Бахмутка, виявлено концентрації Sr (3977 мкг/дм^3) та Li ($43,1 \text{ мкг/дм}^3$) [1, 8]. Після знищення Каховської дамби 6 червня 2023 року в басейні річки Дніпро було зафіксовано концентрацію Zn ($55,5 \text{ мкг/дм}^3$) [8, 13]. Також у водоймах поблизу військового полігону в Норвегії зафіксовано Sb з концентрацією $7,4 \text{ мкг/л}$ [5, 21]. Цей метал був включений до схеми дослідження через його використання в боєприпасах та властивості, зокрема високу мобільність і доступність, що робить його потенційно здатним швидко і легко потрапити в екосистеми. Водночас, стибій практично не досліджували в українських водоймах, а завдяки зазначеним чинникам ймовірність його присутності є високою [5, 25].

З огляду на зазначене, метою дослідження стало вивчення впливу металів, що можуть забруднювати водні екосистеми внаслідок військової діяльності, на біопроекти у гідробіотів. Результати дослідження сприятимуть кращому розумінню наслідків збройних конфліктів для довкілля та можуть бути використані для розробки природоохоронних заходів у зонах, де спостерігається підвищений ризик мілітарного забруднення.

Матеріали та методи досліджень

Експерименти на тваринах проводились у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000) та рішення етичної комісії Тернопільського національного педагогічного університету (Протокол № 2, 2020). Реактиви, що були використані в ході експерименту, постачало ТОВ «Хімлаборреактив» і вони мали кваліфікацію «хч» або вище.

Для перевірки токсичності екологічно реальних для водойм у зонах бойових дій концентрацій металів була застосована експериментальна модель *in vitro* з використанням гепатоцитів та гомогенату мозку коропа звичайного (*Cyprinus carpio*).

Тварин з рибного господарства транспортували до лабораторії в резервуарах об'ємом з аерованою водою. Після акліматії рибу анестезували крижаною банею та умиротворяли під етерним наркозом. Усі подальші процедури з відбору і обробки тканини проводили на холоді. Гепатоцити *C. carpio* отримували шляхом перфузії печінки через ворітну вену. Клітини розділяли шляхом лізування в $100 \text{ мкл } 0,1 \% \text{ трипсину/ЕДТА}$ протягом 2 хв [14]. Для подальшого використання клітини ресуспендували в збалансованому сольовому розчині Хенка без Ca^{2+} і Mg^{2+} до кількості 10^7 клітин/мл.

Життєздатність клітин оцінювали після кожної процедури виділення для кожного типу клітин шляхом вивільнення трипанового синього. У всіх досліджуваних випадках життєздатність клітин становила $96,2 \pm 3,3 \%$ без статистично вірогідних відмінностей ($p > 0,05$).

Гепатоцити коропа ($\sim 10^7$ клітин/мл) витримували протягом 24 годин в присутності йонів Купруму ($51 \text{ мкг Cu}^{2+}/\text{дм}^3$), Сторонцію ($3977 \text{ мкг Sr}^{2+}/\text{дм}^3$), Цинку ($55,5 \text{ мкг Zn}^{2+}/\text{дм}^3$), їх суміші в аналогічних концентраціях та в суміші, доповненій Кадмієм ($1,9 \text{ мкг Cd}^{2+}/\text{дм}^3$), Стибієм ($7,4 \text{ мкг Sb}^{5+}/\text{дм}^3$) та Літієм ($43,1 \text{ мкг Li}^{+}/\text{дм}^3$). Група контролю не піддавалася дії жодних додаткових чинників. Після експозиції вимірювали параметри окисного стресу (загальна антиоксидантна активність, активність каталази, перокисне окиснення ліпідів та вміст окисних модифікацій протеїнів), стану клітинних тіолів (вміст глутаніону та активність глутатіон S-трансферази), нейротоксичності (активність холінестерази) та апоптозу (активність каспази-3).

Активність каталази (САТ) визначали за методом Аєбі [4], який ґрунтується на зменшенні оптичної густини внаслідок розкладання пероксиду водню під дією каталази. Вимірювання проводили спектрофотометрично при довжині хвилі 240 нм , активність ензиму обраховували за мілімолярним коефіцієнтом і виражали в $\text{мкмоль}/(\text{мг розчинного протеїну} \cdot \text{хв})$.

Вміст окисних модифікацій протеїнів (ОМП) та перокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали в спільній пробі ізольованих гепатоцитів після осадження протеїнів за допомогою

20 % сульфосаліцилової кислоти. Для характеристики ПОЛ вимірювали кількість утворених у результаті реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою ТБК-активних продуктів [16]. Визначення проводили при 532 нм відносно контролю на реактиви, обрахунок – за молярним коефіцієнтом екстинції комплексу ($\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). ОМП визначали на основі утворених 2,4-динітрофенілгідрозонів [2]. Оптичну густину реєстрували за 370 нм, вміст ушкоджених протеїнів обраховували на основі молярного коефіцієнту екстинції ($2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Вміст загального глутатіону (GSH) визначали з допомогою реактиву Елмана [4, 12], опираючись на здатності GSH окиснюватися ДТНБ до окисненої форми (GSSG) з утворенням 5-тіо-2-нітробензойної кислоти. Вимірювання проводили при 412 нм, стандартні розчини виготовляли з відновленого глутатіону, концентрацію виражали в мкмоль на г вологої маси тканини. Активність глутатіон S-трансферази (GST) визначали за утворенням аддуктів 1-хлоро-2,4-динітробензену із глутатіоном. Поглинання світла реєстрували при довжині хвилі 340 нм через 5 хв після початку реакції, активність ензиму обчислювали за коефіцієнтом екстинції ($9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [15].

Активність каспази 3 (Cas-3) визначали за утворенням п-нітроаніліну під дією каспази 3 у лізаті клітин. Інтенсивність світлопоглинання визначали після 2 годин інкубування за температури 37 °C і довжини хвилі 405 нм. Активність ензиму виражали в нмоль/мг протеїну [19]. Активність холінестерази (ChE) визначали за здатністю гідролізувати ацетилтіохолін йодид при 25 °C. Індикатором тіолових груп виступала ДТНБ [12]. Активність ChE виражали в нмоль гідролізованого ацетилтіохолін йодиду/хв *мг протеїну.

Результати вимірів подані у вигляді $M \pm SD$ для 8 зразків. Вірогідною вважали відмінність між рядами за $p < 0,05$. Для Аналізу одержаних даних використовували комп'ютерні програми GraphPad Prism 8 та Exel для Windows-2016. Аналіз отриманих біологічних показників здійснювали з допомогою комп'ютерних програм Statistica v 12.0 та Exel для Windows-2016.

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що забруднення обраними металами водних екосистем несе загрозу для гідробіонтів шляхом впливу на ряд фізіологічних і метаболічних процесів. Так, у підвищених концентраціях мідь порушує функції дихальної системи риб, впливаючи на роботу зябер і кровообіг; цинк у надлишку порушує метаболізм кальцію та роботу нервової системи; стронцій здатний замінювати кальцій у скелетних структурах, що призводить до пригнічення росту та рухової активності; літій негативно впливає на ендокринну систему, змінюючи рівень гормонів, які контролюють життєво важливі процеси, та викликає порушення репродуктивної функції; кадмій є високотоксичним, порушує функції нирок і печінки, індукуює апоптоз у клітинах; стибій порушує обмін речовин, впливає на поведінкові реакції риб, знижуючи їхню здатність до адаптації в природному середовищі [5, 23].

Разом з тим, спільною негативною дією надлишку металів є їх здатність провокувати окисний стрес, продукти якого пошкоджують клітинні мембрани, змінюють активність транспортних процесів, порушують баланс метаболічних реакцій та викликають дисфункцію органів [21].

Обрані нами для дослідження показники є важливими індикаторами адаптаційних процесів організму, які охоплюють клітинний та організмовий рівень, і дають змогу встановити потенційний ефект діючих чинників. Так, загальна антиоксидантна активність (ЗАА) характеризує здатність організму нейтралізувати вільні радикали, захищаючи клітини від окисного стресу. Важливість її вивчення полягає у визначенні рівня стійкості організму до токсичних впливів. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) є процесом руйнування ліпідів мембран під впливом вільних радикалів, відтак збільшення кількості пошкоджених ліпідів свідчить про руйнування клітинних мембранних структур [9].

Окисні модифікації протеїнів (ОМП) виникають внаслідок взаємодії протеїнів з реактивними формами кисню, що призводить до втрати їхньої функціональності. Вивчення ОМП допомагає оцінити рівень клітинного стресу. Щодо ензиматичного забезпечення антиоксидантної діяльності, то каталаза – ензим, який розкладає перекис водню,

попереджаючи його токсичний вплив. Її активність є індикатором здатності організму протидіяти окисному стресу. Глутатіонтрансфераза – ензим, який бере участь у детоксикації ксенобіотиків і продуктів окисного стресу. Водночас, глутатіон – основний внутрішньоклітинний антиоксидант, що підтримує редокс-баланс і захищає клітини від пошкоджень. Його кількість відображає стан антиоксидантного захисту. Каспаза-3 є ключовим ензимом апоптозу, що спричиняє програмовану загибель клітин. Вивчення її активності дозволяє оцінити процеси клітинної смерті. Ацетилхолінестераза відповідає за розщеплення ацетилхоліну в синапсах, забезпечуючи нормальну нейронну функцію. Зміна її активності свідчить про небезпечні прояви зміни передачі між нейронами, а відтак про суттєві прояви нейротоксичності за дії металів як окремо, так і у суміші [18, 19].

Зазначимо, що ці маркери є критично важливими для оцінки токсичності забруднень та розробки заходів з охорони навколишнього середовища. Вивчення зазначених показників дозволяє визначити комплексний вплив токсикантів на водні організми, що спрогнозує в подальшому особливості функціонування тих чи інших водойм за дії полутантів різної природи [20].

Результати досліджень показали, що вплив окремих металів (мідь, цинк, стронцій) та їх сумішей (мідь, стронцій, цинк – у першій суміші; мідь, стронцій, цинк, кадмій, стибій, літій – у другій) характеризувався різним рівнем токсичності (рис. 1). Так, щодо загальної антиоксидантної активності у гепатоцитах коропа, то найбільш негативний ефект проявляла мідь (більш ніж на 20 % зменшилася ЗАА відносно контролю), тоді як цинк та суміші металів спричиняли здебільшого однакову дію. Стосовно каталази, то у дослідках ми не відмітили достовірних змін її активності у клітинах печінки як порівняно з контролем, так і між групами, що свідчить про доволі високу стабільність та консервативність у цього ензиму за стресових чинників. Водночас, найбільш помітного ушкодження ліпідів зазнавали за дії стронцію і цинку, а також суміші міді, цинку, стронцію, кадмію, стибію і літію. Протеїни піддавалися впливу міді та суміші міді, стронцію, кадмію, літію та стибію.

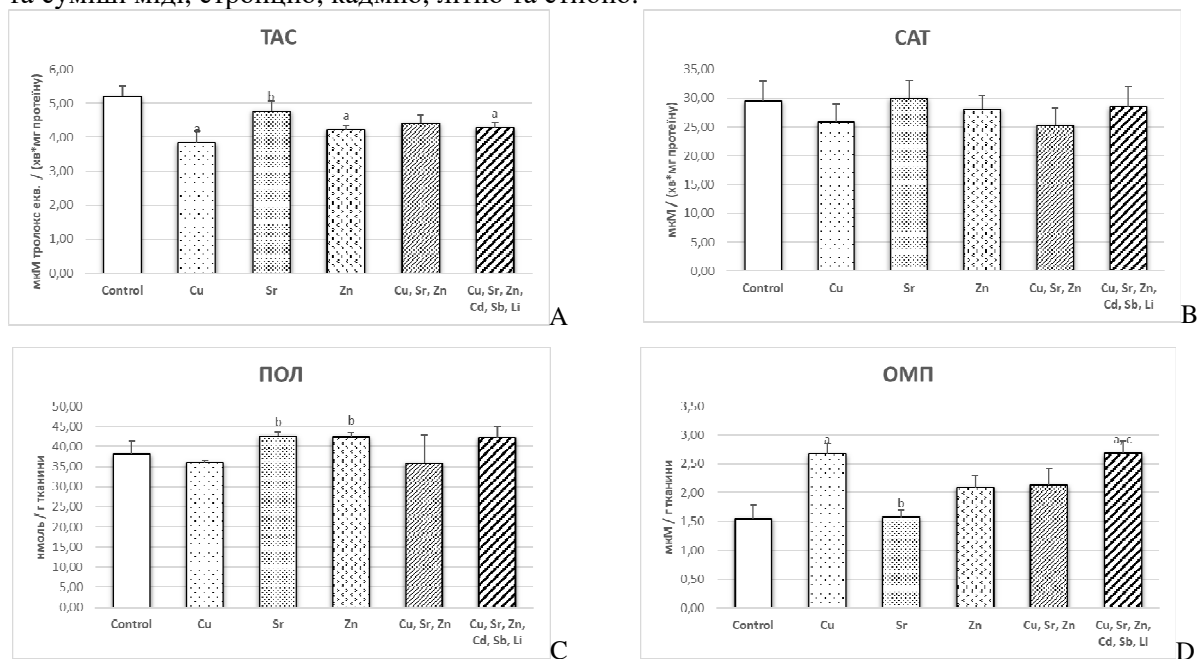


Рис. 1: Показники стану антиоксидантної системи у гепатоцитах *C. carpio* за впливу металів та їх сумішей у концентраціях, що спостерігаються у водоймах в районах бойових дій: А – загальна антиоксидантна активність; В – активність каталази; С – перокисне окиснення ліпідів; D – окисні модифікації протеїнів. Літери над стовбцями означають достовірну відмінність від групи контролю (a), Cu (b), Sr (c), Zn (d), суміші Cu, St, Zn (e).

Загалом, щодо стану антиоксидантної системи у гепатоцитах *C. carpio* з'ясовано, що мідь проявила найбільш токсичну дію серед окремих елементів, викликаючи порушення клітинної життєдіяльності та окисний стрес, тоді як цинк і стронцій мали помірний та слабкий токсичні впливи відповідно. У першій суміші спостерігалася синергія токсичності, де мідь значно посилювала ефект цинку й стронцію. Друга суміш через додавання кадмію й стибію демонструвала ще сильніший кумулятивний ефект, спричиняючи серйозні структурні порушення мембранної цілісності клітин та накопичення продуктів окисного стресу.

Тіолова система в гепатоцитах коропа за дії означених концентрацій металів меншою мірою піддавалася змінам (рис. 2). Активність глутатіон-S-трансферази практично не змінювалася, що свідчить про належні процеси детоксикації ксенобіотиків у печінці риби. Проте кількість відновленого глутатіону зменшувалася за дії обох сумішей металів, що засвідчує посилення оксидативного стресу через утворення активних форм кисню, оскільки метали кадмій і стибій здатні порушувати роботу ензимів, які беруть участь у відновленні GSH (глутатіонредуктази), що додатково ускладнює підтримку його рівня [11]. Водночас, інші метали, такі як цинк або літій, можуть мати протекторний ефект, але при комбінованому впливі він часто недостатній для компенсації загальної токсичності суміші [23]. Таким чином, вплив сумішей металів призводить до значного зниження рівня відновленого глутатіону в клітинах печінки *C. carpio*, що послаблює антиоксидантний захист гепатоцитів та провокує окисне ушкодження протеїнів, ліпідів і ДНК.

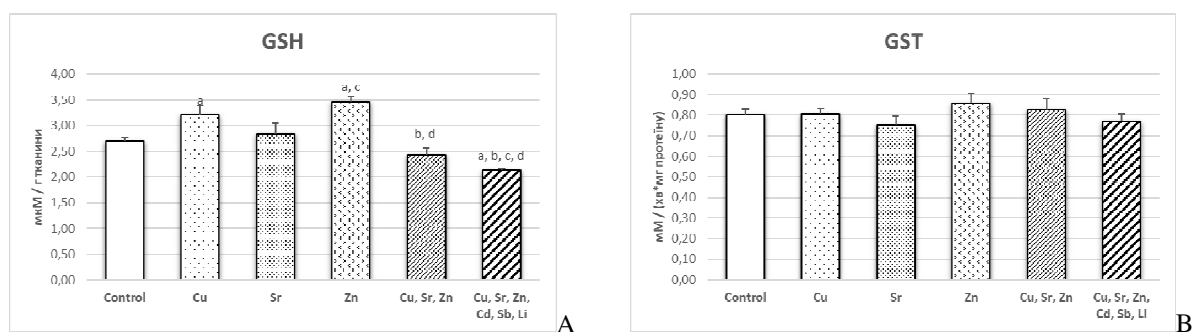


Рис. 2: Показники стану тіолової системи у гепатоцитах *C. carpio* за впливу металів та їх сумішей у концентраціях, що спостерігаються у водоймах в районах бойових дій: А – вміст глутатіону; В – активність глутатіон-S-трансферази. Літери над стовбцями означають достовірну відмінність від групи контролю (a), Cu (b), Sr (c), Zn (d), суміші Cu, St, Zn (e).

Суміші металів можуть значно впливати на активність ензимів через здатність пошкоджувати мітохондрії, індукувати окисний стрес, змінювати іонний баланс і взаємодіяти з активними центрами. Вивчення змін активності ензимів каспази та ацетилхолінестерази підтвердили високу потенційну небезпеку, яку становлять досліджувані у водному середовищі метали для риб (рис. 3).

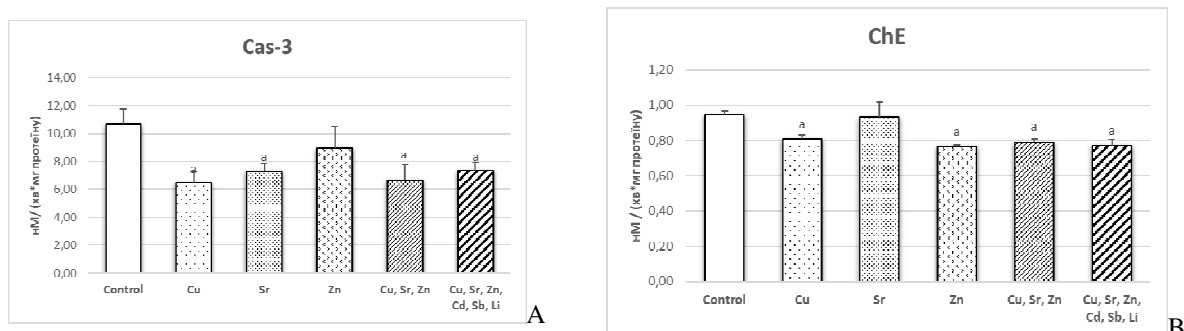


Рис. 3: Показники апоптозу у гепатоцитах та нейротоксичності у мозку *C. carpio* за впливу металів та їх сумішей у концентраціях, що спостерігаються у водоймах в районах бойових дій: А – активність каспази-3; В – активність холінестерази. Літери над стовбцями означають достовірну відмінність від групи контролю (а), Cu (b), Sr (c), Zn (d), суміші Cu, St, Zn (e).

Так, отримані результати показали, що активність холінестерази у клітинах мозку коропа достовірно зменшувалася, особливо за дії суміші металів. Варто зауважити, ацетилхолінестераза є ключовим ензимом, який регулює передачу нервових імпульсів шляхом гідролізу ацетилхоліну. Метали здатні зв'язуватися з активним центром ензиму та змінювати його конформацію, знижуючи таким чином його активність. Також є інформація, що мідь і стибій, які стимулюють утворення активних форм кисню, провокують окислення важливих амінокислотних залишків у складі ензиму, що теж безпосередньо впливає на функціонування холінестерази та призводить до порушення передачі нервових імпульсів і нейротоксичних ефектів [11, 19].

Водночас, активність каспази у *C. carpio* зменшувалася, що свідчить про зниження процесів запрограмованого апоптозу, а відтак активацію некротичних процесів, які узгоджуються з порушеннями метаболічних процесів, обумовлених окисним стресом, збільшенням окисномодифікованих протеїнів, зменшенням глутатіону та зниженням загальної антиоксидантної активності [6, 18].

Отже, на основі вищесказаного можна зробити висновок, що суміші металів зазвичай чинять більш виражений вплив, ніж окремі елементи, завдяки синергії між компонентами, який проявляється активацією окисних процесів, виснаженням тілової системи та порушенням нервової регуляції організму риб. Таким чином, наші дослідження підкреслюють важливість систематичного вивчення впливу металів та їх сумішей на водні організми для отримання ефективних та неспецифічних біомаркерів токсичної дії щодо проявів окисних процесів, зміни активності ензимів антиоксидантного захисту та апоптозу, що дозволить більш точно прогнозувати оцінки стану стабільності і виживаності популяцій риб та екосистеми загалом.

Висновки

Дослідження показало, що екологічно реальні для зони бойових дій концентрації окремих металів (мідь, цинк, стронцій) та їх сумішей (з кадмієм, літєм та стибієм) мають суттєвий вплив на функціональний стан коропа. Найбільш токсичним металом виявилася мідь, яка викликає окисний стрес, зниження рівня відновленого глутатіону та порушення клітинних функцій. Цинк і стронцій проявили помірну та слабку токсичність відповідно. Суміші металів демонстрували синергічний ефект, який значно посилював негативний вплив на антиоксидантну систему риб, зокрема шляхом виснаження пулу глутатіону та активації оксидативного стресу.

Сукупний вплив металів також сприяв зміні активності каспаз і ацетилхолінестерази, що призводило до індукції метаболічних змін та порушення нервової регуляції. Особливо шкідливими виявилися суміші з додаванням кадмію та стибію, які найбільшою мірою знижували функціональні показники коропа. Таким чином, метали та їх суміші чинять багатокомпонентний негативний вплив, що потребує подальшого моніторингу та розробки заходів для зменшення токсичності у водних екосистемах.

1. Державне агентство водних ресурсів України. Аналітичний огляд стану водних ресурсів у лютому 2023 року. URL: <https://davr.gov.ua/news/analitichnij-oglyad-stanu-vodnih-resursiv-u-lyutomu-2023-roku> (дата звернення: 5.10.2024).
2. Лушак В., Багнюкова Т., Лушак О. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурат активні продукти і карбонільні групи білків. *Український біохімічний журнал*. 2004. 76 (3). С. 136–141.
3. Рацлав В. В. Дослідження хімічного стану якості вод басейну річки Сіверський Донець через визначення ПР ВРД. *Екологічні науки*. 2022. № 1(28). С. 228–234. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-008-7.2-12>.
4. Aebi H., Wyss S. R., Scherz B., Skvaril F. Heterogeneity of Erythrocyte Catalase II. Isolation and Characterization of Normal and Variant Erythrocyte Catalase and Their Subunits. *European Journal of*

- Biochemistry*. 1974.48 (1): 137–45. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4141308> (Last accessed: 20.08.2024).
5. Altahaan Z., Dobslaw D. Assessment of the Impact of War on Concentrations of Pollutants and Heavy Metals and Their Seasonal Variations in Water and Sediments of the Tigris River in Mosul/Iraq. *Environments*. 2024. Vol. 11, No. 10. <https://doi.org/10.3390/environments11010010>.
6. Alvarado C., Ramírez J., Herrera-López E. J., Cortez D., Ramírez G. Bioaccumulation of Metals in Cultured Carp (*Cyprinus carpio*) from Lake Chapala, Mexico. *Biological Trace Element Research*. 2020. 195. doi:10.1007/s12011-019-01845-w.
7. Anderson M. E. Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide in Biological Samples. *Methods in Enzymology*. 1985. N 113 (1): 548–55. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13073-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13073-9).
8. Barker A. J., Clausen J. L., Douglas T. A., Bednar A. J., Griggs C. S., Martin W. A. Environmental impact of metals resulting from military training activities: A review. *Chemosphere*. 2021. Vol. 265. Article No. 129110. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129110>.
9. Bonomini S., Dottori L., Amoroso A., Sirolli V. Increased Platelet Phosphatidylserine Exposure and Caspase Activation in Chronic Uremia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004. 2 (8): 1275–81. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.00837.x>.
10. Broomandi P., Guney M., Kim J. R., Karaca F. Soil Contamination in Areas Impacted by Military Activities: A Critical Review. *Environments*. 2024. Vol. 11, No. 10. <https://doi.org/10.3390/su12219002>.
11. Dulić Z., Živić I., Pergal M., Živić M., Stanković M., Manojlović D., Marković Z. Accumulation and seasonal variation of toxic and trace elements in tissues of *Cyprinus carpio* from semi-intensive aquaculture ponds. *Ann. Limnol. - Int. J. Limn.*, 2018. 54 (4). <https://doi.org/10.1051/limn/2017036>.
12. Ellman G., Courtney K., Andres V., Feather-Stone R. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961. 7 (2). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
13. Environmental Institute, National and Kapodistrian University of Athens. Investigative Monitoring of the Chemical Pollution in the Kherson Region. EU/UNDP Project: European Union for Improving Environmental Monitoring in the Black Sea (EU4EMBLAS). 2024. URL: <https://emblasproject.org/wp-content/uploads/2024/10/Nova-Kakhovka-DRAFT-FINAL-REPORT-0524-rev3-inclAnx.pdf>. (дата звернення: 6.10.2024).
14. Grunow B., Noglick S., Kruse Ch., Gebert M. Isolation of Cells from Atlantic Sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* and Optimization of Culture Conditions. *Aquatic Biology*. 2021. 14 (1): 67–75. <https://doi.org/10.3354/AB00383>.
15. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 1974. 249 (22): 7130–7139. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4436300> (дата звернення 20.08.2024).
16. Hiroshi O., Ohishi N., Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979. 95 (2): 351–58. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).
17. Hryhorczuk D., Levy B. S., Prodanchuk M., Kravchuk O., Bubalo N., Hryhorczuk A., Erickson T. B. The environmental health impacts of Russia's war on Ukraine. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2024. Vol. 19, No. 1. <https://doi.org/10.1186/s12995-023-00398-y>.
18. Jaiswal A., Verma A., Jaiswal P. Detrimental Effects of Heavy Metals in Soil, Plants, and Aquatic Ecosystems and in Humans. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 2018;3 7:183–197. doi: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2018025348.
19. Liu Y, Chen Q, Li Y, Bi L, Jin L, Peng R. Toxic Effects of Cadmium on Fish. *Toxics*. 2022 Oct 19;10 (10):622. doi: 10.3390/toxics10100622.
20. Okereafor U., Makhatha M., Mekuto L., Uche-Okereafor N., Sebola T., Mavumengwana V. Toxic Metal Implications on Agricultural Soils, Plants, Animals, Aquatic life and Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17: E2204. doi: 10.3390/ijerph17072204.
21. Okkenhaug G., Smebye A. B., Pabst T., Amundsen C. E., Sævarsson H., Breedveld G. D. Shooting range contamination: mobility and transport of lead (Pb), copper (Cu) and antimony (Sb) in contaminated peatland. *Journal of Soils and Sediments*. 2018. Vol. 18. P. 3310–3323. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-1922-x>.
22. Pereira P., Bašić F., Bogunovic I., Barcelo D. Russian-Ukrainian war impacts the total environment. *Science of The Total Environment*. 2022. Vol. 837. Article No. 155865. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155865>.
23. Prakash B. O. Health Risks of Potentially Toxic Metals Contaminated Water. *IntechOpen*. 2020. doi: 10.5772/intechopen.92141.

24. Skalny A. V., Aschner M., Bobrovniksky I., Chen P., Tsatsakis A., Paoliello M., Buha A., Tinkov A. A. Environmental and health hazards of military metal pollution. *Environmental Research*. 2021. Vol. 201. Article No. 111568. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111568>.
25. Ukraine conflict environmental briefing: The coastal and marine environment. Conflict and Environment Observatory. 2022. URL: <https://ceobs.org/ukraine-conflict-environmental-briefing-the-coastal-and-marine-environment>. (дата звернення: 10.10.2024).

References

1. Derzhavne ahentstvo vodnykh resursiv Ukrainy. Analitychnyi ohliad stanu vodnykh resursiv u liutomu 2023 roku. URL: <https://dav.gov.ua/news/analitichnij-oglyad-stanu-vodnih-resursiv-u-lyutomu-2023-roku> (data zvernennia: 5.10.2024). [in Ukrainian]
2. Lushchak V., Bahniukova T., Lushchak O. Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. 1. Tiobarbiturat aktyvni produkty i karbonilni hrupy bilkiv. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal*. 2004. 76 (3): 136–41. [in Ukrainian]
3. Ratslav V. V. Doslidzhennia khimichnoho stanu iakosti vod baseynu richky Siverskyi Donets cherez vyznachennia PR VRD. *Ekolohichni nauky*. 2022. No 1(28). S. 228–234. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-008-7.2-12>. [in Ukrainian]
4. Aebi H., Wyss S. R., Scherz B., Skvaril F. Heterogeneity of Erythrocyte Catalase II. Isolation and Characterization of Normal and Variant Erythrocyte Catalase and Their Subunits. *European Journal of Biochemistry*. 1974.48 (1): 137–45. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4141308> (Last accessed: 20.08.2024).
5. Altahaan Z., Dobslaw D. Assessment of the Impact of War on Concentrations of Pollutants and Heavy Metals and Their Seasonal Variations in Water and Sediments of the Tigris River in Mosul/Iraq. *Environments*. 2024. Vol. 11, No. 10. <https://doi.org/10.3390/environments11010010>.
6. Alvarado C., Ramírez J., Herrera-López E. J., Cortez D., Ramirez G. Bioaccumulation of Metals in Cultured Carp (*Cyprinus carpio*) from Lake Chapala, Mexico. *Biological Trace Element Research*. 2020. 195. doi:10.1007/s12011-019-01845-w.
7. Anderson M. E. Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide in Biological Samples. *Methods in Enzymology*. 1985. N 113 (1): 548–55. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13073-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13073-9).
8. Barker A. J., Clausen J. L., Douglas T. A., Bednar A. J., Griggs C. S., Martin W. A. Environmental impact of metals resulting from military training activities: A review. *Chemosphere*. 2021. Vol. 265. Article No. 129110. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129110>.
9. Bonomini S., Dottori L., Amoroso A., Sirolli V. Increased Platelet Phosphatidylserine Exposure and Caspase Activation in Chronic Uremia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004. 2 (8): 1275–81. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.00837.x>.
10. Broomandi P., Guney M., Kim J. R., Karaca F. Soil Contamination in Areas Impacted by Military Activities: A Critical Review. *Environments*. 2024. Vol. 11, No. 10. <https://doi.org/10.3390/su12219002>.
11. Dulić Z., Živić I., Pergal M., Živić M., Stanković M., Manojlović D., Marković Z. Accumulation and seasonal variation of toxic and trace elements in tissues of *Cyprinus carpio* from semi-intensive aquaculture ponds. *Ann. Limnol. - Int. J. Limn.*, 2018. 54 (4). <https://doi.org/10.1051/limn/2017036>.
12. Ellman G., Courtney K., Andres V., Feather-Stone R. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961. 7 (2). [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
13. Environmental Institute, National and Kapodistrian University of Athens. Investigative Monitoring of the Chemical Pollution in the Kherson Region. EU/UNDP Project: European Union for Improving Environmental Monitoring in the Black Sea (EU4EMBLAS). 2024. URL: <https://emblasproject.org/wp-content/uploads/2024/10/Nova-Kakhovka-DRAFT-FINAL-REPORT-0524-rev3-inclAnx.pdf>. (Last accessed: 6.10.2024).
14. Grunow B., Noglick S., Kruse Ch., Gebert M. Isolation of Cells from Atlantic Sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* and Optimization of Culture Conditions. *Aquatic Biology*. 2021. 14 (1): 67–75. <https://doi.org/10.3354/AB00383>.
15. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione S-Transferases. The First Enzymatic Step in Mercapturic Acid Formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 1974. 249 (22): 7130–7139. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4436300> (Last accessed: 20.08.2024).
16. Hiroshi O., Ohishi N., Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979. 95 (2): 351–58. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).
17. Hryhorczuk D., Levy B. S., Prodanchuk M., Kravchuk O., Bubalo N., Hryhorczuk A., Erickson T. B. The environmental health impacts of Russia's war on Ukraine. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2024. Vol. 19, No. 1. <https://doi.org/10.1186/s12995-023-00398-y>.

18. Jaiswal A., Verma A., Jaiswal P. Detrimental Effects of Heavy Metals in Soil, Plants, and Aquatic Ecosystems and in Humans. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 2018;3 7:183–197. doi: 10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2018025348.
19. Liu Y, Chen Q, Li Y, Bi L, Jin L, Peng R. Toxic Effects of Cadmium on Fish. *Toxics*. 2022 Oct 19;10 (10):622. doi: 10.3390/toxics10100622.
20. Okereafor U., Makhatha M., Mekuto L., Uche-Okereafor N., Sebola T., Mavumengwana V. Toxic Metal Implications on Agricultural Soils, Plants, Animals, Aquatic life and Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17: E2204. doi: 10.3390/ijerph17072204.
21. Okkenhaug G., Smebye A. B., Pabst T., Amundsen C. E., Sævarsson H., Breedveld G. D. Shooting range contamination: mobility and transport of lead (Pb), copper (Cu) and antimony (Sb) in contaminated peatland. *Journal of Soils and Sediments*. 2018. Vol. 18. P. 3310–3323. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-1922-x>.
22. Pereira P., Bašić F., Bogunovic I., Barcelo D. Russian-Ukrainian war impacts the total environment. *Science of The Total Environment*. 2022. Vol. 837. Article No. 155865. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155865>.
23. Prakash B. O. Health Risks of Potentially Toxic Metals Contaminated Water. *IntechOpen*. 2020. doi: 10.5772/intechopen.92141.
24. Skalny A. V., Aschner M., Bobrovitsky I., Chen P., Tsatsakis A., Paoliello M., Buha A., Tinkov A. A. Environmental and health hazards of military metal pollution. *Environmental Research*. 2021. Vol. 201. Article No. 111568. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111568>.
25. Ukraine conflict environmental briefing: The coastal and marine environment. Conflict and Environment Observatory. 2022. URL: <https://ceobs.org/ukraine-conflict-environmental-briefing-the-coastal-and-marine-environment>. (Last accessed: 10.10.2024).

O. I. Horyn, M. M. Hladchuk, O. I. Bodnar

Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF THE IMPACT OF REAL CONCENTRATIONS OF METALS OF MILITARY ORIGIN ON AQUATIC ORGANISMS

This article presents an ecotoxicological evaluation of the impact of environmentally relevant concentrations of military-derived metals on aquatic organisms, using the common carp (*Cyprinus carpio*) as a model species. The study assessed total antioxidant activity, lipid peroxidation (LPO) intensity, oxidative protein modifications (OPM) levels, catalase and glutathione transferase activity, as well as glutathione levels in the brain, liver cells, and blood of the carp. Additionally, the activity of caspase-3 and acetylcholinesterase was examined under exposure to zinc (Zn), antimony (Sb), copper (Cu), and their mixtures with lithium (Li) and cadmium (Cd).

The results demonstrated significant alterations in the antioxidant defense system of the exposed organisms. Elevated LPO and OPM levels indicated intensified oxidative stress, while fluctuations in catalase and glutathione transferase activity reflected adaptive responses to metal toxicity. A decline in glutathione levels suggested depletion of antioxidant reserves. The study of caspase-3 activity provided insights into apoptotic mechanisms, whereas changes in acetylcholinesterase activity pointed to potential neurotoxic effects.

These findings are crucial for understanding the ecological risks associated with military-origin metal contamination in aquatic ecosystems. They provide valuable data for developing environmental regulations and mitigation strategies to address metal pollution and its effects on aquatic biota.

Key words: aquatic organisms, toxicity, metals, military pollution.

Надійшла 08.11.2024.