

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Вовчек Наталії Олександрівни
на тему «Морфологічні та біохімічні показники прісноводних риб
за дії іонів кобальту», представлену на здобуття наукового ступеня
доктора філософії в галузі – «Біологія» за спеціальністю 091-«Біологія»

Актуальність теми. Серед перехідних металів кобальт за впливом на живі системи викликає особливий інтерес. Він є есенціальним редокс-активним металом, що відіграє вирішальну роль у регуляції численних життєво важливих функцій у складі ціанокобаламіну та щонайменше восьми ензимів, що не містять коринової системи. Хоча кобальт вважається відносно нетоксичним металом, проте його надлишок у незакомплексованій формі може призводити до ініціації прооксидантних процесів внаслідок його активності як переносника електронів та конкуренції з різноманітними гем-вмісними простетичними групами. Відтак, у місцевостях техногенного навантаження, де джерелами забруднення водойм є гальваніка, фарби, електроніка, гірничодобувна промисловість, металургійна промисловість та виробництво пігментів, виникає загроза токсичності кобальту для біоти. На фізіологічному рівні для людини повідомляється про токсичність кобальту, пов'язану з впливом на щитовидну залозу, серце та кровотворну систему, професійними захворюваннями легень, алергічними проявами та канцерогенезом, що може виникати навіть внаслідок надмірного вживання харчових добавок, руйнування металометалевих протезів кульшового суглоба.

Прісноводні риби є важливими промисловими видами, у вирощуванні яких використовують доданки мікроелементів. Зокрема, оскільки прісноводні риби часто не отримують достатньої кількості кобальту з їхнього природного середовища, у аквакультури практикуються його добавки для забезпечення оптимального росту та здоров'я. Разом з тим, для водних організмів, зокрема риб, існує мало інформації щодо балансу між фізіологічними та токсичними проявами дії цього мікроелементу. Тому обрана тема наукової роботи, присвячена вивченню морфологічних та біохімічних маркерів стану організму двох поширених видів риб карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* Bloch.) та щуки звичайної (*Esox lucius* L.) за впливу на організм іонів кобальту являє як теоретичну, так і практичну актуальність у індикації токсичності водного середовища та обґрунтуванні рекомендацій у рибництві.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалася в межах держтематики «Дослідження токсикорезистентності прісноводних риб до дії чинників водного середовища». Державний реєстраційний номер 0122U001543.

Метою роботи, як зазначено авторкою, було здійснити порівняльну характеристику стану окремих морфологічних та біохімічних показників організму прісноводних риб (карася та щуки) за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що дисертанткою вперше визначено здатність акумулювати кобальт та особливості впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у воді на морфологічні та деякі біохімічні показники в організмі карася та щуки. Зокрема, проаналізовано вміст кобальту в крові піддослідних риб та його вплив на кількість еритроцитів, гематокрит, гемоглобін, а також вміст метаболітів енергетичного обміну. Розширено знання про показники окисного стресу в крові риб як біомаркери інтоксикації іонами кобальту, а також особливості функціонування ензимних систем прісноводних риб за дії цих іонів. Показано роль системи крові у формуванні токсикорезистентності риб та розглянуто можливість використання отриманих результатів для оцінки стану оточуючого водного середовища.

Практичне значення роботи. Відомо, що фізіолого-біохімічні показники тканин риб об'єктивно відображають стан водних організмів в конкретних умовах водного середовища. Тому одержані дані щодо змін морфологічних та біохімічних показників в їх організмі можуть бути використані для розробки експрес-методів виявлення біологічних ушкоджень у риб іонами важких металів, зокрема при розробці методів оцінки забруднення металами водного середовища у ставковому рибористві.

Оскільки кобальт є есенціальним металом, отримані результати можуть послугувати при створенні рекомендацій у практиці годівлі промислових риб. Крім того теоретичні положення та практичні результати роботи можуть бути використані при читанні навчальних курсів «Водна токсикологія», «Екологічна фізіологія і біохімія», «Експериментальна екологія», «Екологічний моніторинг» для студентів вузів природничих спеціальностей.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій

Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки побудовані на матеріалах власних досліджень. Робота виконана з використанням сучасних класичних методів досліджень, які є науково обґрунтованими і достовірними. Це дозволило провести кваліфіковані вимірювання, що відповідає поставленим завданням, а коректно виконаний статистичний аналіз отриманих результатів дозволяє оцінити їх та основні наукові положення й висновки досліджень дисертантки як достовірні.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 160 сторінках комп'ютерного набору і складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та

узагальнення результатів дослідження, висновків та переліку використаних літературних джерел, який включає 243 посилань, з них 227 латиною. Робота ілюстрована 45 рисунками та 4 таблицями.

В огляді літератури наведені загальні принципи розуміння проблеми впливу важких металів як забруднювачів навколишнього водного середовища. Також приділяється увага методам аналізу вмісту кобальту в гідроекосистемах, зокрема біоіндикації, його акумуляції, метаболізму та токсичності для гідробіонтів. Огляд достатньо інформативний, у ньому проаналізовано відому інформацію та вказано на прогалини у знаннях. Заслужує на увагу опрацювання значної кількості літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної тематики та їх доречне використання як у Огляді, так і в подальшому при викладенні власних результатів. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

Він побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання дослідження. Проте існують змістовні повтори у підрозділах 1.1 та 1.2.

Розділ «Матеріали та методи досліджень» є досить деталізованим і добре інтерпретує всі практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Авторкою застосовані перевірені класичні методи морфологічного, біохімічного та статистичного аналізу.

Експериментальні результати подані у розділах III, IV, V та VI. Слід відзначити, що у кожному розділі подається короткий вступ, який аргументує важливість цього етапу дослідження та оціночний підсумок. У розділі III приведено результати дослідження низки морфологічних показників карася та шуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді. Важливо, що, не зважаючи на відносно малий для морфологічних змін термін інкубації, гепатосоматичний індекс зазнав змін, що свідчить про чутливість метаболічних процесів до інкубації. Ці результати вкотре підтверджують інформативність цього індексу для попередньої оцінки впливу довкілля на організм риби.

У розділі IV авторка досліджує гематологічні показники риб і демонструє їх відмінності залежно від концентрації металу у водному середовищі, специфічні для кожного виду. Загалом, відзначено позитивні зміни кількості еритроцитів, гематокриту та гемоглобіну у обох видів. Водночас гіпотеза про ймовірне втручання кобальту у структуру гемоглобіну на підставі посилання на роботу Kitanishi et al (2021), які вводили кобальт-порфірин замість залізо-порфірину у структуру гістидин кінази бактерії *Anaeromyxobacter* sp. видається спекулятивною (С 69). Аналогічно, пояснення збільшення рівню глюкози у крові обох видів риб (гіперглікемія) може бути пояснене не лише збільшенням енергетичних потреб, але й пригніченням її транспорту у клітини. Як слушно відзначається, досліджені види риб є представниками бентофагів та хижих видів,

що, відповідно і може пояснювати відмінності у їх реакціях. Дисертантка також відзначає підвищений рівень лактату у крові, що, на нашу, думку, є ознакою метаболічних розладів у тканинах, та супроводжується збільшенням активності ЛДГ у крові – відомого маркера метаболічних розладів..

Вміст протеїнів плазми крові та їх фракційного складу був ретельно проаналізований і засвідчив принципові відмінності у реакції на дію кобальту між двом видами. Відтак, виявлено як спільні, так і протилежні зміни показників крові у двох видів, що потребує глибшого аналізу встановлених змін.

У розділі V авторка демонструє, що за вмістом первинних і кінцевих продуктів ПОЛ у крові організм шуки виявився більш вразливим. Разом з тим, у плазмі крові активація СОД та каталази була відзначена у обох видів. Біомаркери оксидативного стресу можуть бути цінними інструментами для оцінки стану здоров'я водних організмів, однак для встановлення чіткого причинно-наслідкового зв'язку необхідні подальші, більш детальні дослідження.

VI розділ визначається авторкою як «особливості функціонування ензимних систем». На нашу думку, це не зовсім коректно стосовно ензимів антиоксидантного захисту. Коректніше було би «метаболічних шляхів у тканинах». Оцінено активність визнаних маркерних ензимів тканинних аномалій, таких як трансамінази АсАТ та АлАТ, а їх активація у тканинах та пригнічення у плазмі крові, як і збільшення співвідношення АсАТ/АлАТ свідчить про позитивний вплив кобальту. Разом з тим, сукцинатдегідрогеназна та цитохромоксигеназна активності, узгоджено з ЛДГ вказує на пригнічення аеробного дихання. Стосовно ЛДГ, чому не було об'єднано її аналіз у крові та тканинах? Відтак, отримано важливі результати щодо метаболічної активності у тканинах риб за впливу кобальту.

В VII розділі роботи авторка дає загалом кваліфіковану оцінку отриманим результатам щодо ензимів метаболічного та енергетичного забезпечення та їх тканевій специфічності у обох видів риб, гематологічних показників та здатності організму акумулювати іони кобальту. Продемонстровано, що у кожному експерименті існують певні взаємозалежності біомаркерів, що з високою ймовірністю визначають реакцію системи. На підставі отриманих даних авторка пропонує використовувати окремі морфологічні та біохімічні показники як біомаркери несприятливих впливів у водному середовищі.

На основі проведених досліджень дисертантка формулює конструктивне узагальнення та **одинадцять висновків** констатуючого характеру, які відповідають поставленим завданням та повною мірою відображають результати роботи.

Дискусійні положення, запитання та зауваження щодо змісту та оформлення дисертації

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є низка питань дискусійного характеру та зауважень до термінології і подання цифрового матеріалу.

1. Як можна оцінити порівняльну токсичність кобальту для щуки та карася, ґрунтуючись на результатах?

2. С. 41. Некоректний термін: Орієнтовна потреба в кобальті з кормом для *Tilapia zillii* становила близько 100 мг металу на кілограм (не металу, а іонів)

3. С 26-27 – (фрагменти 1.2 і 1.1) змістовно повторюються.

4. У розділі «Матеріали та методи» слід подати посилання на інформацію про ГДК кобальту.

5. С. 64. Невдалий термін «акумулявання кобальту у крові риб обумовлене...» Кров не є тканиною депонування, що відмічає справедливо і сама авторка.

6. С 85. Коректно вживати не «Вплив іонів Co^{2+} на сироватку крові» а прояви у сироватці крові впливу на організм.

7. У Підсумку до розділу 4 подається повтор інформації про вміст та фракційний розподіл протеїнів (С. 83-84).

8. Чому визначали продукти пероксидації у цільній крові, а активність ензимів у плазмі? Незрозуміло, чому у підсумку до розділу авторка оцінює активацію ензимів антиоксидантного захисту як прояв прооксидантної дії (с. 93).

9. С 102. Авторка зазначає «зростає роль АсАТ у процесах трансамінування в крові риб», проте у крові трансамінування не відбувається, а активність ензимів тут є наслідком виходу ензимів з тканин.

10. Інформація про вміст металів, ЛДГ та інші ензими у тканинах печінки та зябер та крові розглядається відокремлено, що ускладнює цілісне сприйняття закономірностей. При об'єднанні цих даних Висновки були би лаконічнішими.

Проте ці зауваження не применшують вагомого значення отриманих результатів та високого рівня їх обговорення.

Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях

Результати дисертаційного дослідження опубліковані у семи статтях (з яких - дві статті у виданнях, що містяться у наукометричній базі Scopus). Також результати було оприлюднено, що відображено у шести тезах доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях та з'їзді

Відсутність порушення академічної доброчесності

У дисертації Н.О. Вовчек не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень, що могли б

поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертаційного дослідження.

Анотація у повній мірі відображає зміст роботи. Вона не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

Дисертація написана змістовно, літературною мовою, стиль викладання матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно.

Отже, дисертаційна робота Вовчек Наталії Олександрівни є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми, достовірність та наукова новизна одержаних результатів, обґрунтованість наукових положень та висновків, їх вірогідність та повнота викладу в опублікованих працях свідчать про глибоку наукову самостійність авторки, а також сучасний рівень проведеного дослідження.

На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Вовчек Наталії Олександрівни на тему «Морфологічні та біохімічні показники прісноводних риб за дії іонів кобальту», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та оформленням відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. №44 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

доктор біологічних наук,
професор кафедри хімії та методики її навчання
Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка



Оксана СТОЛЯР

