

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Марків Віктора Степановича «Особливості ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту», представленій на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія

**Загальна оцінка роботи.** В умовах зростання антропогенного навантаження на водні екосистеми, посилення техногенного забруднення та накопичення важких металів у гідросфері проблема вивчення адаптивно-компенсаторних реакцій гідробіонтів набуває особливої актуальності. Одним із небезпечних поллютантів є кобальт, який, будучи есенціальним мікроелементом у фізіологічних концентраціях, за надлишкового надходження здатний спричиняти розвиток оксидативного стресу, порушення ліпідного обміну та дестабілізацію функціонування антиоксидантної системи.

Метою дисертаційної роботи було здійснити порівняльну характеристику змін окремих фракцій ліпідного складу та стану антиоксидантної системи карася сріблястого (*Carassius gibelio*) та щуки звичайної (*Esox lucius*) за впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у водному середовищі.

Для досягнення поставленої мети автором було передбачено комплекс експериментальних досліджень, спрямованих на вивчення процесів накопичення кобальту у тканинах риб, аналіз змін загального та фракційного складу ліпідів, жирнокислотного профілю, інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, а також оцінку стану ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантного захисту.

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 164 сторінках. Основний зміст роботи викладено на 132 сторінках комп'ютерного тексту. Структура дисертації включає вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали та методи дослідження», розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки та список використаних джерел. Робота ілюстрована 58 рисунками та містить 4 таблиці. Список використаних джерел налічує 218 джерел, з яких 213 – латиною. Дисертаційна робота структурована, має необхідні складові, загальноприйняті для аналогічних досліджень.

**Актуальність.** Актуальність теми дисертаційної роботи зумовлена необхідністю поглибленого вивчення механізмів впливу важких металів на водні екосистеми в умовах зростання антропогенного навантаження та техногенного забруднення гідросфери. Однією з актуальних проблем сучасної екотоксикології є накопичення важких металів у водному середовищі та їх біоаккумуляція в організмах гідробіонтів, що може призводити до порушення фізіолого-біохімічних процесів, розвитку оксидативного стресу та зниження адаптивного потенціалу водних організмів.

Особливу увагу привертає кобальт, який, будучи есенціальним мікроелементом, у підвищених концентраціях проявляє виражені токсичні властивості та здатний спричиняти дестабілізацію ліпідного обміну, ушкодження клітинних мембран і порушення функціонування антиоксидантної системи риб. Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених токсичності важких металів, питання комплексної оцінки змін ліпідного профілю та антиоксидантного захисту у різних видів прісноводних риб за дії іонів кобальту залишаються недостатньо вивченими.

Актуальність роботи також визначається необхідністю пошуку чутливих біомаркерів токсичного впливу важких металів для систем екологічного моніторингу та оцінки екологічного стану водних екосистем. У цьому аспекті дослідження змін ліпідного складу, жирнокислотного профілю та показників антиоксидантного захисту у прісноводних риб має важливе теоретичне та практичне значення для розвитку сучасної екотоксикології, гідробіології та рибного господарства.

**Наукова новизна.** Новизна роботи полягає у комплексному дослідженні закономірностей перебудови ліпідного складу та функціонування антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту. У роботі встановлено особливості змін фракційного складу ліпідів, інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та активності компонентів антиоксидантного захисту у тканинах карася сріблястого (*Carassius gibelio*) та щуки звичайної (*Esox lucius*) за впливу сублетальних концентрацій кобальту.

Автором виявлено міжвидові особливості адаптивно-компенсаторних реакцій досліджуваних видів риб та показано, що вища екологічна резистентність карася супроводжується стабільнішим функціонуванням антиоксидантної системи та менш вираженими змінами ліпідного профілю порівняно зі щукою. Встановлено, що токсичний вплив кобальту супроводжується структурним ремоделюванням мембранних фосфоліпідів, активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів та змінами жирнокислотного складу тканин риб.

Науково цінними є результати щодо встановлення взаємозв'язків між накопиченням кобальту, перебудовою ліпідного профілю та показниками антиоксидантного захисту. Показано, що одним із механізмів формування пулу неестерифікованих жирних кислот за умов токсичного стресу є деструктивний гідроліз мембранних фосфоліпідів, що супроводжується накопиченням лізофосфатидилхоліну.

Отримані результати суттєво розширюють сучасні уявлення про механізми токсичної дії кобальту на організм прісноводних риб та мають важливе значення для розвитку екотоксикології, біохімії гідробіонтів і систем біомоніторингу водних екосистем.

**Практичне значення одержаних результатів.** Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості використання встановлених біохімічних показників як чутливих біомаркерів токсичного впливу важких

металів на гідробіонтів та для оцінки екологічного стану водних екосистем. Отримані результати можуть бути використані у системах екологічного моніторингу для ранньої діагностики оксидативного стресу та порушень метаболічних процесів у прісноводних риб за умов техногенного забруднення водою іонами кобальту.

Встановлені закономірності змін ліпідного профілю, жирнокислотного складу та функціонування антиоксидантної системи можуть бути використані у практиці рибного господарства для оцінки фізіологічного стану риб, прогнозування наслідків антропогенного навантаження та визначення адаптаційного потенціалу іхтіофауни в умовах забруднення водного середовища.

Практичну цінність мають також результати щодо впливу кобальту на вміст поліненасичених жирних кислот та показники харчової цінності рибної продукції, що може бути враховано при оцінці якості рибної сировини в умовах техногенного забруднення водою. Крім того, отримані результати можуть бути використані при розробці науково обґрунтованих підходів до нормування вмісту кобальту у водних об'єктах та вдосконаленні систем екологічного контролю.

Матеріали дисертаційної роботи можуть бути впроваджені в освітній процес закладів вищої освіти при викладанні дисциплін «Біохімія», «Гідробіологія», «Водна токсикологія», «Екологічний моніторинг» та інших природничих дисциплін.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, плановими науково-дослідними роботами.** Дисертаційна робота виконувалася відповідно до основних напрямів науково-дослідної діяльності Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка та пов'язана з виконанням науково-дослідних робіт у галузі екотоксикології, біохімії гідробіонтів і водної екології.

Роботу виконано у межах науково-дослідної держбюджетної тематики «Дослідження токсикорезистентності прісноводних риб до дії чинників водного середовища» (№ державної реєстрації 0122U001543, науковий керівник – д.б.н., професор В. З. Курант), міжнародного проєкту NATO SPS Multiyear Research Project G6094, а також проєкту Міністерства освіти і науки України «Оцінка впливу мілітарного забруднення на безпечність річково-басейнових систем на основі біореакцій та математичного моделювання».

Тематика дисертації повністю відповідає напрямам зазначених науково-дослідних робіт та спрямована на вивчення механізмів токсичного впливу важких металів на організм прісноводних риб, оцінку адаптивно-компенсаторних реакцій гідробіонтів і пошук чутливих біохімічних маркерів екологічного стану водних екосистем.

**Публікації.** За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 15 наукових праць, зокрема 6 статей у фахових наукових виданнях України,

одна з яких індексується у наукометричній базі даних Scopus, а також 9 тез доповідей у матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій.

Основні результати дисертаційної роботи достатньо широко апробовані та висвітлені у наукових публікаціях, що відповідають тематиці дослідження. Опубліковані праці відображають ключові положення дисертації, зокрема питання накопичення кобальту в тканинах риб, змін ліпідного та жирнокислотного складу, особливостей функціонування антиоксидантної системи та процесів пероксидного окиснення ліпідів за умов токсичного впливу іонів кобальту.

### **Оцінка змісту роботи, її обґрунтованості та достовірності.**

Анотація. Наведено стислу характеристику дисертаційної роботи, представлено отримані результати і наведено перелік опублікованих робіт. Є англomовний варіант анотації.

Вступ. У вступі дисертаційної роботи автором обґрунтовано актуальність теми дослідження, пов'язану зі зростанням антропогенного забруднення водних екосистем важкими металами та необхідністю вивчення механізмів токсичного впливу іонів кобальту на організм прісноводних риб. Визначено мету, завдання, об'єкт, предмет і методи дослідження, наведено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів.

У вступі також висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами та тематиками, наведено відомості про апробацію результатів дослідження, публікації автора та структуру дисертаційної роботи.

Розділ 1. У першому розділі дисертаційної роботи наведено ґрунтовний огляд сучасної наукової літератури, присвяченої біологічній ролі кобальту, його токсикологічним ефектам у водних екосистемах та впливу важких металів на організм риб. Автором проаналізовано фізіологічне значення кобальту як есенціального мікроелемента, особливості його участі у метаболічних процесах, а також механізми токсичної дії за надлишкового надходження в організм гідробіонтів.

У розділі розглянуто сучасні уявлення про процеси біоаккумуляції важких металів у водних екосистемах, механізми індукції оксидативного стресу, порушення ліпідного обміну та функціонування антиоксидантної системи риб за умов токсичного навантаження. Окрему увагу приділено аналізу методів визначення кобальту у водному середовищі та тканинах риб, а також біохімічним аспектам перебудови ліпідного профілю за дії металів.

Загалом огляд літератури виконаний на достатньому науковому рівні, логічно структурований та свідчить про обізнаність автора з сучасним станом досліджень у галузі екотоксикології та біохімії гідробіонтів.

Розділ 2. У другому розділі дисертаційної роботи наведено характеристику матеріалів та методів дослідження. Автором детально описано умови проведення експерименту, особливості утримання риб, схему токсикологічного дослідження та методики відбору тканин для подальших біохімічних аналізів.

У роботі використано сучасні біохімічні, хроматографічні та статистичні методи дослідження. Для визначення вмісту кобальту, активності ферментів антиоксидантної системи та продуктів пероксидного окиснення ліпідів застосовано спектрофотометричні методи. Аналіз фракційного складу ліпідів проводили методом тонкошарової хроматографії, а жирнокислотного складу – методом газової хроматографії. Для статистичної обробки результатів використано t-критерій Стьюдента, W-критерій Вілкоксона та кореляційний аналіз за Пірсоном.

Методичний підхід загалом є достатньо обґрунтованим та відповідає поставленим завданням дослідження

Розділ 3. У третьому розділі дисертаційної роботи автором досліджено особливості накопичення та перерозподілу іонів кобальту в організмі карася сріблястого (*Carassius gibelio*) та щуки звичайної (*Esox lucius*) за умов експериментального токсичного навантаження. Показано, що акумуляція металу має виражений дозозалежний та тканинноспецифічний характер, при цьому найбільший вміст кобальту встановлено у печінці та м'язах риб, тоді як у зябрах концентрації були нижчими.

Автором виявлено міжвидові відмінності у накопиченні металу та зроблено висновок про вищу резистентність карася до токсичного впливу кобальту порівняно зі щукою. Отримані результати є достатньо аргументованими та узгоджуються із сучасними уявленнями про процеси біоаккумуляції важких металів у прісноводних риб.

Розділ має важливе значення для подальшого розуміння механізмів токсичної дії кобальту та формує підґрунтя для аналізу змін ліпідного профілю й антиоксидантної системи у наступних розділах роботи. Разом із тим, доцільним було б ширше обговорити можливі механізми тканинного депонування кобальту та провести порівняння отриманих результатів із даними досліджень природних водойм.

Розділ 4. У четвертому розділі дисертаційної роботи наведено результати дослідження особливостей ліпідного складу тканин зябер, печінки та м'язів карася сріблястого (*Carassius gibelio*) і щуки звичайної (*Esox lucius*) за інтоксикації іонами кобальту. Автором проаналізовано зміни загального вмісту ліпідів, фракційного складу неполярних і полярних ліпідів, а також жирнокислотного профілю м'язової тканини риб.

У розділі показано, що токсичний вплив кобальту супроводжується вираженим структурним ремоделюванням ліпідного профілю, яке має дозозалежний, тканинно- та видоспецифічний характер. Встановлено накопичення продуктів гідролізу ліпідів, зміни співвідношення основних класів фосфоліпідів, деградацію триацилгліцеролів та перебудову жирнокислотного складу тканин риб. Особливу увагу автор приділяє змінам фосфоліпідного профілю та ролі лізофосфатидилхоліну як маркера деструкції мембранних структур.

Отримані результати мають наукову цінність та суттєво розширюють уявлення про механізми токсичної дії кобальту на організм риб. Разом із тим,

окремі висновки щодо структурного ремоделювання клітинних мембран базуються переважно на біохімічних показниках і потребували б додаткового морфологічного або гістологічного підтвердження. Крім того, доцільним було б ширше обговорити функціональні наслідки змін жирнокислотного профілю для фізіологічного стану та харчової цінності риб.

Розділ 5. У п'ятому розділі дисертаційної роботи досліджено вплив підвищених концентрацій іонів кобальту на стан антиоксидантної системи та процеси пероксидного окиснення ліпідів у тканинах карася сріблястого (*Carassius gibelio*) та щуки звичайної (*Esox lucius*). Автором проаналізовано показники загальної антиоксидантної активності, активність каталази та глутатіон-S-трансферази, вміст загального глутатіону, а також інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів.

У розділі показано, що дія кобальту супроводжується розвитком оксидативного стресу та формуванням видоспецифічних адаптивно-компенсаторних реакцій антиоксидантної системи. Встановлено, що у карася адаптація до токсичного навантаження проявляється активацією антиоксидантного захисту, зростанням пулу загального глутатіону та активності глутатіон-S-трансферази, тоді як у щуки спостерігається розвиток некомпенсованого оксидативного стресу із виснаженням глутатіонової системи на тлі інтенсифікації процесів пероксидного окиснення ліпідів.

Отримані результати є науково обґрунтованими та добре узгоджуються із сучасними уявленнями про механізми токсичної дії важких металів на організм риб. Разом із тим, для більш повної характеристики антиоксидантної системи доцільним було б включення додаткових маркерів оксидативного стресу, зокрема супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази або показників окисної модифікації білків.

Розділ 6. У шостому розділі дисертаційної роботи автором здійснено аналіз та узагальнення отриманих результатів дослідження. Основну увагу приділено встановленню взаємозв'язків між накопиченням кобальту, перебудовою ліпідного профілю, інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів та функціонуванням антиоксидантної системи у тканинах досліджуваних видів риб.

У розділі наведено результати кореляційного аналізу, які свідчать про видоспецифічний характер метаболічної відповіді карася та щуки на токсичний вплив кобальту. Автором показано, що у карася адаптивна відповідь супроводжується структурним ремоделюванням жирнокислотного профілю та активацією антиоксидантного захисту, тоді як у щуки переважають процеси мембранної деструкції та розвитку некомпенсованого оксидативного стресу.

Позитивною стороною розділу є спроба інтегрованого узагальнення біохімічних механізмів токсичної дії кобальту та формування цілісної концепції взаємозв'язку між процесами накопичення металу, оксидативного стресу та перебудови ліпідного обміну. Разом із тим, окремі інтерпретації кореляційних залежностей мають дискусійний характер, оскільки

кореляційний аналіз не завжди дозволяє однозначно встановити причинно-наслідкові механізми виявлених змін. Крім того, для підсилення аналітичної частини роботи доцільним було б використання методів багатовимірної статистики.

Висновки. У висновках дисертаційної роботи узагальнено основні результати проведених досліджень та сформульовано положення, що відповідають поставленій меті й завданням роботи. Автором показано, що дія підвищених концентрацій іонів кобальту супроводжується вираженими змінами ліпідного профілю, перебудовою жирнокислотного складу, інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення ліпідів та порушенням функціонування антиоксидантної системи у тканинах прісноводних риб.

У висновках обґрунтовано видоспецифічний характер адаптивно-компенсаторних реакцій карася сріблястого та щуки звичайної на токсичний вплив кобальту. Встановлено, що карась характеризується вищою токсикорезистентністю та здатністю до активації антиоксидантного захисту, тоді як у щуки переважають процеси оксидативного ушкодження та мембранної деструкції.

Висновки є достатньо аргументованими, логічно впливають із отриманих результатів та загалом відповідають поставленим завданням дослідження.

З огляду на матеріал є деякі запитання, неточності або зауваження:

1. Автором використано концентрації іонів кобальту 0,1 та 0,25 мг/дм<sup>3</sup>, однак недостатньо повно обґрунтовано їх екологічну релевантність та відповідність реальним рівням забруднення природних водойм. Бажано було б ширше проаналізувати дані екологічного моніторингу щодо вмісту кобальту у водних екосистемах.

2. У роботі показано міжвидові відмінності токсикорезистентності карася та щуки, проте механізми таких відмінностей розкрито недостатньо детально. Доцільним було б ширше обговорити роль особливостей метаболізму, трофічного статусу та екологічної пластичності досліджуваних видів риб.

3. Частина висновків щодо деструкції мембранних структур та ремоделювання фосфоліпідів ґрунтується переважно на біохімічних показниках. Для більш повного підтвердження таких тверджень доцільним було б використання морфологічних або гістологічних методів дослідження.

4. Автор активно використовує кореляційний аналіз для пояснення механізмів токсичної дії кобальту, однак окремі кореляційні залежності мають дискусійний характер і не завжди дозволяють однозначно трактувати причинно-наслідкові взаємозв'язки між досліджуваними показниками.

5. Для більш повної характеристики стану антиоксидантної системи доцільним було б включення додаткових показників оксидативного стресу, зокрема супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази або показників окисної модифікації білків.

6. У роботі недостатньо уваги приділено можливим наслідкам змін жирнокислотного складу для харчової та біологічної цінності рибної продукції в умовах забруднення водою кобальтом.

7. У дисертації як модельну токсичну речовину використано  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , що при дисоціації у водному середовищі утворює не лише іони кобальту ( $\text{Co}^{2+}$ ), але й хлорид-іони ( $\text{Cl}^-$ ). Враховуючи те, що хлориди також можуть впливати на осмотичний баланс, іонний транспорт та зяброві структури у риб, чи розглядали Ви можливий супутній вплив  $\text{Cl}^-$  на результати експерименту?

8. Експеримент тривав 14 діб, що дозволяє оцінити субхронічний вплив кобальту, однак не дає повного уявлення про довготривалі адаптивні механізми або можливе виснаження компенсаторних систем. Перспективним було б доповнення досліджень тривалішими експозиціями.

Наведені запитання та побажання не зменшують наукової цінності дисертаційної роботи в цілому та носять виключно дискусійний та рекомендаційний характер.

Дисертаційна робота Марків Віктора Степановича «Особливості ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту» оформлена відповідно до вимог «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», затвердженого наказом Міністерства освіти і науки України №40 від 12 січня 2017 року. На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що за своєю актуальністю, значним обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, достовірністю одержаних результатів, обґрунтованістю висновків, практичним значенням 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 №44 від 12 січня 2022 року та «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів», затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19 травня 2023 року, а її автор заслуговує на присвоєння ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент  
Проректор з наукової роботи  
Дніпровського національного університету  
імені Олеся Гончара  
кандидат біологічних наук, доцент



Маренков О.М.

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
Тідише  
Начальник відділу кадрів  
О.М. Маренков  
" 22 05 2023