

# БІОХІМІЯ

УДК 597.2/5-11.044:577.112.825:546.73

doi: 10.25128/2078-2357.25.3.2

В. С. МАРКІВ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка  
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027  
e-mail: viktor.markiv@tnpu.edu.ua

## **БІОМАРКЕРИ ОКИСНОГО СТРЕСУ У КАРАСЯ ТА ЩУКИ ЗА ДІЇ ІОНІВ КОБАЛЬТУ**

---

У роботі проаналізовано показники окисного стресу у зябрах, печінці та м'язах карася сріблястого (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) і щуки звичайної (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) за впливу іонів кобальту у концентраціях 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> протягом 14 діб. Встановлено, що токсична дія кобальту має спільний механізм, але призводить до різних фізіологічних наслідків у риб. Карась продемонстрував вищий поріг оксидативного виснаження, зберігаючи антиоксидантну цілісність у досліджуваних умовах. Щука реагує як чутливий біоіндикатор токсичного впливу іонів кобальту. При цьому має місце виснаження загальної системи захисту та індуковане пероксидне окиснення ліпідів у тканинах, що призводить безпосередньо до пошкодження структури мембран. Отримані дані є важливими для розуміння впливу іонів кобальту на водні екосистеми та можуть бути використані для розробки екологічних нормативів і контролю щодо забруднення цим металом водою.

*Ключові слова:* гідробіонти, біомаркери, екотоксикологія, оксидативний стрес, антиоксиданти, пероксидне окиснення ліпідів, кумулятивний ефект, метали, кобальт.

Протягом останніх десятиліть процеси урбанізації та індустріалізації призвели до значного перевищення концентрацій важких металів у водних екосистемах, попри внесок природних геохімічних процесів. Іони металів є одними з найбільш руйнівних забруднювачів водних екосистем завдяки їх біоаккумуляції, біомагніфікації, стійкості та здатності взаємодіяти з численними біологічними компонентами [22]. Риби постійно зазнають впливу важких металів у водному середовищі, що обумовлює їх широке використання як модельних організмів у екотоксикологічних дослідженнях [17].

Іони важких металів можуть надмірно індукувати утворення активних форм кисню (АФК) [3]. Організми реагують на збільшення продукування АФК шляхом посилення регулювання своєї антиоксидантної системи захисту за допомогою неферментативних (загальний глутатіон, вітамін С, поліфеноли) та ферментативних компонентів (супероксиддисмутаза, глутатіон-S-трансфераза, каталаза) [9]. Як комплексний показник цього процесу вимірюється загальна антиоксидантна активність, яка кількісно відображає сумарну дію всіх антиоксидантів у клітинах організму, спрямовану на боротьбу з вільними радикалами. Це забезпечує більш повну оцінку загальної стійкості організму до окислювального пошкодження [14].

Надмірне продукування АФК, що супроводжується модуляцією антиоксидантної системи захисту може спричинити оксидативний стрес та високий рівень пероксидного окислення ліпідів в організмі риб [3]. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів оцінюється шляхом вимірювання концентрацій його первинних або кінцевих ТБК-активних речовин. Продукти

ПОЛ, що вивільняються в неполярній середній частині біологічних мембран, змінюють їх стабільність шляхом пошкодження їх цілісності, впливаючи на ліпід-ліпідні, ліпід-білкові взаємодії та функції мембранних протеїнів [6]. Використання інтегрованих біомаркерів є ефективним інструментом для моніторингу стану навколишнього водного середовища та може надавати важливу інформацію щодо токсикологічного впливу на гідробіонтів [18].

Кобальт є важливим мікроелементом, який знаходить широке застосування в різних галузях промисловості та сільського господарства, зокрема як складова магнітних матеріалів, акумуляторних батарей і високотемпературних сплавів у реактивних двигунах [1]. Попри важливість цього елемента, який входить до складу вітаміну В<sub>12</sub> та є кофактором низки ферментів (дегідрогенази, гідратази, мутази, трансферази), для нормальної життєдіяльності потрібні лише слідові кількості кобальту. Зростання вмісту цього металу, як у воді, так і в організмі гідробіонтів, може призводити до токсичних ефектів для водної біоти [4]. Кобальт належить до перехідних металів, які, як відомо, генерують АФК, зокрема супероксидні аніони та гідроксильні радикали через реакції Фентона [5].

Таким чином, метою цього дослідження було вивчення впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у воді на неферментативні та ферментативні біомаркери оксидативного пошкодження у тканинах зябер, печінки та м'язів прісноводних риб (карася та щуки), а також використання отриманих даних з метою біомоніторингу гідроекосистем.

### Матеріали та методи досліджень

Експериментальні дослідження проведено на дворічках карася сріблястого (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) та щуки звичайної (*Esox lucius* L., 1758) середньою масою 200–220 г та 150–170 г відповідно. Вивчення зазнав вплив двох підвищених концентрацій іонів кобальту: 0,1 та 0,25 мг/дм<sup>3</sup>, що відповідали 2 та 5 гранично допустимим концентраціям. Метал вносили у воду 200-літрових акваріумів, де знаходилися дослідні групи риб (по п'ять особин у кожному), у вигляді СоСl<sub>2</sub> · 6Н<sub>2</sub>О. З метою зниження впливу на риб їх власних екзометаболітів воду в акваріумах змінювали щодобово. Для досягнення стану розвитку і максимального прояву функціонування компенсаторно-адаптивних реакцій до металу аклімацію риб здійснювали протягом 14 діб. Цей період, за даними авторів [19], є достатнім для формування адаптивних реакцій в організмі екзотермних тварин.

Для аналізу відбирали тканини зябер, передньої долі печінки та білих м'язів спини риб. Тканини гомогенізували у 50 мМ К-фосфатному буферному розчині (рН 7,4) (1:10 маса:об'єм) та центрифугували при 6000 g протягом 10 хв. У супернатантах визначали загальний вміст протеїнів за методом Лоурі та співавторів [16].

Загальну антиоксидантну активність визначали на основі швидкості поглинання радикала 2,2'-азинобіс (3-етилбензотіазолін-6-сульфонат) при 734 нм [10]. Розчини тролоксу використовували як стандарти для калібрування. Еквівалентну антиоксидантну активність тролоксу представляли у вигляді ммоль еквівалент тролоксу/мг протеїнів.

Для кількісного визначення загального глутатіону у гомогенаті тканин було використано метод, який ґрунтується на здатності глутатіону окиснюватися 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою до окисненої форми з утворенням 5-тіо-2-нітробензойної кислоти [2]. Активність глутатіон-S-трансферази визначали спектрофотометрично за утворенням адуктів 1-хлоро-2,4-динітробензолу з глутатіоном [12]. Утворення адукту S-2,4-динітрофеніл глутатіону реєстрували через 20 хв за збільшенням інтенсивності світлопоглинання при 340 нм. Активність ферменту обраховували за коефіцієнтом екстинції комплексу (9,6 ммоль/см) і виражали в мкмоль/мг протеїну.

Активність каталази визначали у фракції розчинного протеїну гомогенату тканини печінки з використанням пероксиду водню як субстрату [13]. Активність ферменту визначали при 240 нм протягом 60 с та розраховували за допомогою коефіцієнта екстинції (40 моль/дм) мкмоль/мг протеїну. ПОЛ у гомогенатах тканин риб оцінювали шляхом вимірювання поглинання червонуватих аддуктів 2-тіобарбітурової кислоти при 532 нм з використанням молярного значення екстинції ( $1,56 \times 10^6$  моль/дм) згідно авторами [20].

Результати досліджень були статистично опрацьовані з використанням t-критерію Стьюдента для визначення достовірної різниці між дослідними і контрольною групами.

**Результати досліджень та їх обговорення**

Завдяки великій площі поверхні та безпосередньому контакту із зовнішнім середовищем, зябровий епітелій є основним місцем проникнення та токсичної дії іонів важких металів, що містяться у воді. Так, за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у зябрах карася достовірних змін у системі антиоксидантного захисту не спостерігали, тоді як за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів досліджуваного металу виявили збільшення активності глутатіон-S-трансферази на 37,7 % і вмісту глутатіону на 56,4 % (табл. 1). Глутатіон-S-трансфераза є ферментом детоксикації другої фази метаболізму, який каталізує кон'югацію глутатіону з електрофільними сполуками або з продуктами пероксидного окислення ліпідів [9, 21]. Таким чином, збільшення активності згаданого вище ферменту, ймовірно, пов'язане із підвищенням токсичного навантаження та запобіганням пошкодження клітин.

Спостережувані зміни в зябрах щуки вказують на фізіологічний стан оксидативного стресу з виснаженням антиоксидантної системи: за дії обох концентрацій кобальту ми виявили збільшення загальної антиоксидантної активності на 10,3 % і 7,5 % та активності глутатіон-S-трансферази на 27,0 % і 16,5 %, тоді як вміст загального глутатіону зменшився на 18,0 % і 23,4 % відповідно. Ці дані вказують на те, що риба активно мобілізує доступні резерви для нейтралізації токсичного впливу металу. Ймовірно, запускається метаболічний шлях, що сприяє синтезу ферментів детоксикації, таких як глутатіон-S-трансфераза [15].

Зменшення вмісту загального глутатіону у зябрах щуки, на відміну від його збільшення у карася, є критичною ознакою виснаження субстрату. Дефіцит глутатіону робить клітини вразливими, навіть якщо в них є достатньо антиоксидантних ферментів, готових до захисту [11]. Катіони важких металів характеризуються надзвичайно високою спорідненістю до залишків –SH груп. Глутатіон утворює комплекси з різними металами через свій тіолольний атом сірки. Окисно-відновні іони металів, такі як Cu<sup>2+</sup> та Fe<sup>2+</sup>, легко каталізують окислення глутатіону, що призводить до утворення тіолових та гідроксильних радикалів. Зниження рівня цього трипептиду у зябрах риб, що зазнали впливу металів, можна пояснити накопиченням важких металів у клітинах, що призводить до їх зв'язування [8].

Таблиця 1

Показники окисного стресу у зябрах карася та щуки за дії іонів Co<sup>2+</sup> (M ± m, n = 5)

| Вид риби/група  | Контроль      | 0,1 мг/дм <sup>3</sup> | 0,25 мг/дм <sup>3</sup> |
|---|---------------|------------------------|-------------------------|
| Загальна антиоксидантна активність (мкмоль екв. тролоксу/мг протеїну) |               |                        |                         |
| Карась  | 111,30 ± 2,21 | 113,82 ± 2,06          | 110,78 ± 1,48           |
| Щука  | 117,98 ± 0,92 | 130,17 ± 3,62*         | 126,85 ± 1,66           |
| Вміст глутатіону (нмоль/мг протеїну)                                  |               |                        |                         |
| Карась  | 7,05 ± 0,88   | 7,53 ± 1,04            | 11,02 ± 0,94*           |
| Щука  | 11,96 ± 0,83  | 9,80 ± 0,24*           | 9,16 ± 0,83*            |
| Активність глутатіон-S-трансферази (мкмоль/мг протеїну)               |               |                        |                         |
| Карась  | 0,60 ± 0,06   | 0,61 ± 0,04            | 0,82 ± 0,08*            |
| Щука  | 1,29 ± 0,01   | 1,64 ± 0,11*           | 1,50 ± 0,03*            |
| Пероксидне окиснення ліпідів (нмоль/г сирової тканини)                |               |                        |                         |
| Карась  | 9,23 ± 0,78   | 10,38 ± 1,01           | 10,94 ± 0,92            |
| Щука  | 7,32 ± 0,52   | 9,62 ± 0,79*           | 7,25 ± 0,70             |

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з контролем (P < 0,05).

За дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у зябрах щуки також виявили збільшення ПОЛ на 31,4 %, що вказує на некомпенсований оксидативний стрес. Пероксидне пошкодження зябрової мембрани може бути результатом окисного руйнування поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), що впливає на транспорт розчинених речовин і води, а також на осморегуляторні функції зябер [8].

На відміну від зябер, які зазнали прямого впливу кобальту, печінка є основним органом детоксикації у риб та активно посилює механізми боротьби з токсичністю важких металів. Так, у печінці карася за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту виявили підвищення загальної антиоксидантної активності на 8,5 % та активності глутатіон-S-трансферази на 24,0 % (табл. 2). Отримані дані свідчать про те, що печінка активно кон'югує продукти оксидативного стресу та робить їх

водорозчинними, посилюючи їх виведення з організму риб [11]. Автори [21] повідомили про значне збільшення активності глутатіон-S-трансферази у печінці даніо-реріо (*Danio rerio* (Hamilton, 1822)) під час тривалого впливу кадмію, пояснюючи це типовою реакцією риб на вплив цього металу. Зміни вказують на підвищену активність антиоксидантної системи для зменшення токсичного впливу важких металів [21].

Таблиця 2

Показники окисного стресу у печінці карася та щуки за дії іонів  $Co^{2+}$  ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )

| Вид риби/група  | Контроль      | 0,1 мг/дм <sup>3</sup> | 0,25 мг/дм <sup>3</sup> |
|---|---------------|------------------------|-------------------------|
| Загальна антиоксидантна активність (мкмоль екв. тролоксу/мг протеїну) |               |                        |                         |
| Карась  | 147,75 ± 4,53 | 160,33 ± 2,51*         | 154,26 ± 4,43           |
| Щука  | 98,03 ± 0,95  | 105,79 ± 1,29*         | 100,60 ± 1,02           |
| Вміст глутатіону (нмоль/мг протеїну)                                  |               |                        |                         |
| Карась  | 96,79 ± 8,87  | 138,59 ± 14,77*        | 125,21 ± 7,51*          |
| Щука  | 26,78 ± 2,23  | 18,24 ± 2,24*          | 16,93 ± 0,98*           |
| Активність глутатіон-S-трансферази (мкмоль/мг протеїну)               |               |                        |                         |
| Карась  | 3,48 ± 0,21   | 4,31 ± 0,27*           | 3,73 ± 0,24             |
| Щука  | 0,78 ± 0,03   | 0,83 ± 0,06            | 0,70 ± 0,02*            |
| Пероксидне окиснення ліпідів (нмоль/г сирової тканини)                |               |                        |                         |
| Карась  | 15,35 ± 0,89  | 6,40 ± 0,57*           | 9,90 ± 0,78*            |
| Щука  | 17,65 ± 0,49  | 21,82 ± 1,37*          | 19,08 ± 1,28            |
| Активність каталази (мкмоль/мг протеїну)                              |               |                        |                         |
| Карась  | 120,15 ± 7,55 | 116,55 ± 11,56         | 93,05 ± 6,83*           |
| Щука  | 55,31 ± 3,99  | 76,75 ± 6,84*          | 73,62 ± 4,97*           |

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ).

За дії обох концентрацій металу у воді в печінці щуки збільшився вміст загального глутатіону на 43,2 % і 29,4 %, та зменшилось значення показника ПОЛ на 58,3 % і 35,5 % відповідно. Печінка синтезує більшу частину глутатіону для безпосереднього хелатування вільних іонів кобальту та поглинання АФК [9]. Зазвичай важкі метали викликають підвищення ПОЛ, однак у цьому випадку реакція печінки (збільшення активності глутатіон-S-трансферази, загальної антиоксидантної активності та рівня глутатіону) була настільки ефективною, що це призвело до зниження фонового рівня вільних радикалів, порівняно із рибами у контрольній групі. Окрім того, за максимальної концентрації досліджуваного металу спостерігалось зменшення активності каталази на 22,6 %, що вказує на пригнічення ферменту або перемикання сигнального шляху за вищих рівнів токсичності [7].

Визначені зміни в печінці карася свідчать про адаптивну реакцію його організму, тоді як зміни в печінці щуки, ймовірно, відображають більш глибокі зміни. Так, за дії обох концентрацій металу виявили збільшення активності каталази на 38,7 % і 33,1 %, а вміст загального глутатіону зменшився на 31,9 % і 36,8 % відповідно. Вплив кобальту стимулює генерацію АФК, внаслідок чого клітини печінки зазнають негативного впливу пероксиду водню. Риба реагує підвищенням активності каталази для розщеплення  $H_2O_2$  на воду та кисень. Це ознака активної, індукованої стресової реакції [7]. Аналогічно, значне збільшення активності каталази спостерігали в тканинах даніо-реріо (*Danio rerio* (Hamilton, 1822)) після впливу карбамазепіну та іонів купруму, що свідчить про захисні механізми, спрямовані на нейтралізацію АФК [21].

На відміну від карася, який синтезував більше глутатіону, щука використовує глутатіон швидше, ніж може його продукувати. У низці досліджень спостерігали зменшення вмісту цього трипептиду у печінці порівняно з контрольною групою за дії іонів кадмію, плюмбуму, цинку, купруму та інших важких металів [9, 14]. Це зниження рівня глутатіону може бути пов'язане з його використанням для детоксикації важких металів і запобіганням пероксидному окисненню ліпідів, опосередкованому вільними радикалами [9].

За дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту ми також виявили збільшення загальної антиоксидантної активності на 7,9 % і ПОЛ на 23,7 %. Незважаючи на підвищення ферментативної активності за цієї концентрації металу, захисна система була недостатньою. Падіння рівня загального

глутатіону зробило ліпідні компоненти мембрани більш вразливими. Швидкість утворення АФК перевищувала швидкість нейтралізації, що призводило до фізичного руйнування клітинних мембран [11]. За максимальної концентрації металу мало місце достовірне зменшення активності глутатіон-S-трансферази на 11,1 %. Ймовірно, це можна пояснити зниженням рівня глутатіону, як було зазначено вище, у результаті чого цей фермент не зміг ефективно функціонувати.

Таблиця 3

Показники окисного стресу у м'язах карася та щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )

| Вид риби/група  | Контроль      | 0,1 мг/дм <sup>3</sup> | 0,25 мг/дм <sup>3</sup> |
|---|---------------|------------------------|-------------------------|
| Загальна антиоксидантна активність (мкмоль екв. тролоксу/мг протеїну) |               |                        |                         |
| Карась  | 101,20 ± 1,38 | 99,44 ± 1,55           | 98,86 ± 1,28            |
| Щука  | 104,17 ± 1,03 | 106,39 ± 0,62          | 102,96 ± 0,97           |
| Вміст глутатіону (нмоль/мг протеїну)                                  |               |                        |                         |
| Карась  | 18,18 ± 1,34  | 24,24 ± 1,89*          | 15,83 ± 1,36            |
| Щука  | 19,21 ± 1,04  | 24,73 ± 2,11*          | 31,05 ± 3,14*           |
| Активність глутатіон-S-трансферази (мкмоль/мг протеїну)               |               |                        |                         |
| Карась  | 0,75 ± 0,06   | 0,54 ± 0,04*           | 0,55 ± 0,04*            |
| Щука  | 0,49 ± 0,03   | 0,47 ± 0,01            | 0,43 ± 0,01             |
| Пероксидне окиснення ліпідів (нмоль/г сирої тканини)                  |               |                        |                         |
| Карась  | 10,22 ± 1,01  | 7,84 ± 0,59*           | 7,62 ± 0,46*            |
| Щука  | 14,79 ± 1,01  | 20,59 ± 1,75*          | 19,42 ± 1,67*           |

Примітка. \* – різниця вірогідна порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ).

М'язи риб характеризуються низьким рівнем антиоксидантної активності, що робить їх потенційно вразливими до тривалої акумуляції токсикантів, попри відсутність миттєвої гострої реакції [23]. У м'язах карася за дії обох концентрацій кобальту у воді виявили зменшення активності глутатіон-S-трансферази на 28,5 % і 26,9 % і ПОЛ на 23,3 % і 25,5 % відповідно (табл. 3). Окрім того, відмічено збільшення вмісту глутатіону на 33,3 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у цій тканині карася та на 28,7 і 61,6 % за дії обох концентрацій металу у м'язах щуки. Оскільки рівень ПОЛ у м'язах карася знизився, глутатіон-S-трансфераза мала менше забезпечення глутатіоном, що також знизило його використання і призвело до накопичення.

На відміну від карася, у якого антиоксидантна система пригнічувала клітинні пошкодження, антиоксидантний захист у м'язовій тканині щуки був перевантажений, так як за дії обох концентрацій металу у воді ми виявили збільшення ПОЛ на 39,2 % і 31,3 % відповідно. Саркоплазматичні мембрани хижих риб багаті на ПНЖК, які є основною мішенню для вільних радикалів [17]. Генерація АФК була настільки швидкою, що навіть підвищений рівень загального глутатіону не міг зупинити ланцюгову реакцію ПОЛ.

### Висновки

Порівняльний аналіз показників окисативного стресу у карася та щуки виявляє різні видоспецифічні фізіологічні реакції на токсичність, викликану іонами кобальту. На відміну від карася, який здебільшого демонстрував реакцію резистентності або антиоксидативної гіперкомпенсації, щука більш чутлива до дії іонів кобальту. Зокрема, у зябрах та печінці щуки вплив досліджуваного металу спричинив підвищення активності каталази, глутатіон-S-трансферази, пероксидного окислення ліпідів паралельно із зниженням вмісту загального глутатіону. Отримані результати вказують на те, що щука є більш чутливим біоіндикатором забруднення металами на ранніх стадіях, тоді як карась служить моделлю фізіологічної адаптації в сильно забрудненому середовищі. Ферментативні та неферментативні антиоксидантні біомаркери у тканинах досліджуваних риб можуть бути використані для оцінки токсичності кобальту для гідробіонтів.

1. Acute and chronic toxicity of cobalt to freshwater organisms: using a species sensitivity distribution approach to establish international water quality standards / W. A. Stubblefield et al. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2020. Vol. 39, No. 4. P. 799–811. URL: <https://doi.org/10.1002/etc.4662>.

2. Anderson M. E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in Enzymology*. 1985. Vol. 113. P. 548–555.
3. Assessment of hepatotoxicity induced by aluminum oxide nanoparticles in *Oreochromis niloticus* using integrated biomarkers: exposure and recovery / E. Massoud et al. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2021. Vol. 106, No. 6. P. 970–977. URL: <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03190-y>.
4. Blust R. 6 - Cobalt. *Fish Physiology*. Academic Press: Cambridge, MA, USA. 2012. Vol. 31. P. 291–326. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(11\)31006-0](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(11)31006-0).
5. Chen H.-Y., Lin Y.-F. Cobalt(II)-mediated fenton-like reactions: effects of second-sphere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and thiolate coordination. *Inorganic Chemistry*. 2025. URL: <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5c04687>.
6. Effect of dietary lactobacillus casei on physiometabolic responses and liver histopathology in Common Carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to iron oxide nanoparticles / S. A. Hedayati et al. *Biological Trace Element Research*. 2021. URL: <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02906-9>.
7. Effects of dietary cobalt levels on growth performance, antioxidant capacity, and immune status of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) / D. Huang et al. *Veterinary Sciences*. 2024. Vol. 11, No. 11. P. 576. URL: <https://doi.org/10.3390/vetsci11110576>.
8. Effects of exposure to multiple trace metals on biochemical, histological and ultrastructural features of gills of a freshwater fish, *Channa punctata* Bloch / S. Pandey et al. *Chemico-Biological Interactions*. 2008. Vol. 174, No. 3. P. 183–192. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.05.014>.
9. Effects of heavy metal contamination on *Oreochromis niloticus* (Tilapia fish) / R. L. Abdel-Aziz et al. *Food Science and Technology*. 2022. Vol. 42. URL: <https://doi.org/10.1590/fst.47822>.
10. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azobis(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays / V. Katalinic et al. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2005. Vol. 140, No. 1. P. 47–52. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.01.005>.
11. Oxidative stress biomarkers in fish exposed to environmental concentrations of pharmaceutical pollutants: a review / L. Grădinariu et al. *Biology*. 2025. Vol. 14, No. 5. P. 472. URL: <https://doi.org/10.3390/biology14050472>.
12. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974. Vol. 249. No 22. P. 7130–7139.
13. Heterogeneity of erythrocyte catalase II. isolation and characterization of Normal and variant erythrocyte catalase and their subunits / H. Aebi et al. *European Journal of Biochemistry*. 1974. Vol. 48, No. 1. P. 137–145.
14. Li J., Yan Y., Xie X. Tissue-specific antioxidative responses and cadmium accumulation in *Silurus meridionalis* under chronic waterborne cadmium exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2018. Vol. 100, No. 4. P. 485–491. URL: <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2294-8>.
15. Li L., Wang R., Zhang Z. The Effect of Cu<sup>2+</sup> Exposure on the Nrf2 signaling pathway of *Tilapia* hepatocyte, based on experiments in vitro. *Fishes*. 2023. Vol. 8, No. 6. P. 280. URL: <https://doi.org/10.3390/fishes8060280>.
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. I., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Vol. 193. № 1. P. 265–275.
17. Markiv V. S., Petrushka B. M., Khomenchuk V. O., Kurant V. Z. Dynamics of fatty acid composition in the muscles of crucian carp and pike under the influence of elevated concentrations of cobalt ions. *The Animal Biology*. 2025. Vol. 27, No. 3. P. 61–67. URL: <https://doi.org/10.15407/animbiol27.03.061>.
18. Moussa M. A., Mohamed H. R. H., Abdel-Khalek A. A. The antioxidant defense capacities and histological alterations in the livers and gills of two fish species, *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*, as indicative signs of the Batts drain pollution. *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. URL: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20804-y>.
19. Nasri F., Heydarnejad S., Nematollahi A. Sublethal cobalt toxicity effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Croatian J. Fisheries*. 2019. Vol. 77 (4). P. 243-252. URL <https://doi.org/10.2478/cjf-2019-0018>.
20. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979. Vol. 95, No. 2. P. 351–358.
21. Oxidative stress and metal homeostasis alterations in *Danio rerio* (zebrafish) under single and combined carbamazepine, acetamiprid and cadmium exposures / G. d. F. Araujo et al. *Aquatic Toxicology*. 2022. Vol. 245. P. 106122. URL: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106122>.
22. Sauliūtė G., Markuckas A., Stankevičiūtė M. Response patterns of biomarkers in omnivorous and carnivorous fish species exposed to multicomponent metal (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn) mixture. Part III. *Ecotoxicology*. 2020. Vol. 29, No. 3. P. 258–274. URL: <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02170-y>.
23. Water physicochemical factors and oxidative stress physiology in fish, a review / S. V. Me Non et al. *Frontiers in Environmental Science*. 2023. Vol. 11. URL: <https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1240813>.

V. S. Markiv

Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ukraine

## BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN CRUCIAN CARP AND PIKE UNDER THE INFLUENCE OF COBALT IONS

Over the past decades, the process of urbanisation and industrialisation has resulted in elevated concentrations of heavy metals in aquatic ecosystems. Metal ions are among the most destructive pollutants in aquatic ecosystems due to their bioaccumulation, biomagnification, persistence, and ability to interact with numerous biological components. It is an established fact that fish are constantly exposed to heavy metals in water. This fact is of particular significance when considering their widespread use as model organisms in ecotoxicological studies. The present study investigates the effects of cobalt ions on the gills, liver and muscles of crucian carp (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) and pike (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) over a 14-day period.

The study utilises analytical techniques to assess oxidative stress indicators in the aforementioned species, with concentrations of cobalt ions ranging from 0.1 mg/dm<sup>3</sup> to 0.25 mg/dm<sup>3</sup>. It has been established that the toxic effect of cobalt has a common mechanism, but leads to different physiological consequences in the studied fish. Cobalt is categorised as a transition metal, which are known to generate active forms of oxygen through Fenton reactions. It has been demonstrated that aquatic organisms exhibit a response to elevated levels of reactive oxygen species (ROS) by means of enhancing the regulation of their antioxidant defence system, a process that involves non-enzymatic and enzymatic components. The results demonstrated that crucian carp exhibited a higher threshold of oxidative depletion, thereby maintaining antioxidant integrity under the conditions of the study. An increase in total glutathione content and a decrease in lipid peroxidation were found in the liver and muscles of crucian carp. Pike reacts as a sensitive bioindicator of the toxic effects of cobalt ions. This results in the depletion of the overall defence system and the induction of peroxide oxidation of lipids in the studied tissues, which directly causes damage to the membrane structure.

The impact of elevated metal concentrations on the catalase activity of the liver and glutathione-S-transferase in the gills of pike was examined. The results demonstrated that while catalase activity increased, total glutathione levels in these tissues decreased. In the muscles of pike, despite an increase in lipid peroxidation, an increase in the content of total glutathione was found. The data obtained are of significance in understanding the impact of cobalt ions on aquatic ecosystems and can be used to develop environmental standards and control measures for the pollution of water bodies with this metal.

*Key words: hydrobionts, biomarkers, ecotoxicology, oxidative stress, antioxidants, lipid peroxidation, cumulative effect, metals, cobalt.*

Надійшла 05.09.2025.