

Міністерство освіти і науки України  
Тернопільський національний педагогічний університет  
імені Володимира Гнатюка

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**МАРКІВ ВІКТОР СТЕПАНОВИЧ**

УДК: 597.551.2/597.552.1:546.73:577.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ТА СТАНУ  
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРІСНОВОДНИХ РИБ ЗА ДІЇ  
ІОНІВ КОБАЛЬТУ**

091 – Біологія

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

**Віктор МАРКІВ** Автор цифрового підпису  
Віктор МАРКІВ  
Дата: 2026.04.16 16:08:39 +03'00' Віктор Марків

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор  
**Курант Володимир Зіновійович**

Тернопіль 2026

## АНОТАЦІЯ

**Марків В.С.** Особливості ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія. – Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Тернопіль, 2026.

За умов сучасної ескалації антропогенних стресових чинників у водному середовищі біоаккумуляція важких металів стала критичною екологічною та токсикологічною проблемою, яка зумовлює необхідність комплексного дослідження адаптивно-компенсаторних реакцій гідробіонтів. Надходження іонів кобальту у гідроекосистеми значною мірою зумовлене промисловими стічними водами, що утворюються внаслідок гірничодобувних робіт, металургії, виробництва акумуляторів, пігментів, каталітичних агентів та магнітних компонентів. Сукупний вплив цих індустриальних джерел регулярно спричиняє локальне перевищення прогнозованих безпечних концентрацій іонів кобальту. Кобальт є необхідним мікроелементом, тоді як дія його супрафізіологічних концентрацій виявляє виражений токсичний ефект на гідробіонтів, спричиняючи дестабілізацію ліпідного профілю та порушення функціонування антиоксидантної системи. Тому мета дисертаційної роботи полягала у визначенні окремих фракцій ліпідного складу та стану антиоксидантної системи карася та шуки за впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у воді.

У модельних умовах досліджено та проаналізовано показники ліпідного складу, стану антиоксидантної системи та пероксидного окиснення ліпідів у тканинах зябер, печінки та м'язів карася сріблястого (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) та шуки звичайної (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) за дії іонів кобальту у концентраціях 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> протягом 14 діб. Експериментальні дослідження були проведені на базі Тернопільського національного

педагогічного університету імені Володимира Гнатюка впродовж 2022–2026 рр.

Зафіксовано значне накопичення іонів кобальту у м'язах і печінці, та дещо нижче у зябрах досліджуваних риб за дії підвищених концентрацій металу у воді. Встановлено, що зміни ліпідного складу у тканинах риб за впливу кобальту має виражений дозозалежний, видо- та тканинноспецифічний характер. Показано, що токсичне навантаження індукує перерозподіл структурно-енергетичних резервів, зумовлюючи акумуляцію загальних ліпідів у печінці та їх виснаження у м'язовій тканині.

Встановлено, що трансформація ліпідного профілю зябер є більш вираженою у щуки, особливо за дії найвищої досліджуваної концентрації іонів кобальту. Зокрема зміни характеризуються зростанням частки фосфоліпідів, неестерифікованих жирних кислот і диацилгліцеролів за рахунок виснаження пулу холестеролу, триацил- та моноацилгліцеролів. Натомість у зябрах карася відповідь є менш інтенсивною і обмежується зниженням рівня холестеролу та тенденцією до накопичення продуктів ліполізу – моноацилгліцеролів і неестерифікованих жирних кислот.

Доведено, що перебудова ліпідного складу печінки риб за впливу іонів кобальту має видоспецифічний характер і проявляється різноспрямованими змінами співвідношення окремих їх фракцій. Зафіксовано зменшення частки фосфоліпідів і триацилгліцеролів на тлі зростання вмісту холестеролу та інтенсифікації процесів гідролізу ліпідів, що підтверджується накопиченням моно-, диацилгліцеролів та неестерифікованих жирних кислот.

Виявлено спільні тенденції трансформації пулу неполярних ліпідів у м'язовій тканині обох видів риб за дії іонів досліджуваного металу, що проявлялося деградацією триацилгліцеролів на тлі інтенсифікації накопичення неестерифікованих жирних кислот. Метаболічна відповідь м'язів щуки вирізнялася виснаженням резерву холестеролу та диацилгліцеролів. Натомість у карася зафіксовано зменшення вмісту фосфоліпідів (за обох

концентрацій металу) та моноацилгліцеролів (за дії вищої концентрації іонів кобальту у воді).

Доведено видоспецифічний та дозозалежний характер структурної реорганізації складу фосфоліпідів у тканинах досліджуваних видів риб за дії іонів кобальту. Виявлено адаптивну реакцію зябер обох видів, яка полягає у збільшенні частки фосфатидилхоліну на тлі зниження вмісту сфінгомієліну та фосфатидилетаноламіну. Показано, що у щуки мають місце зміни мембранних структур печінки та м'язів, що супроводжуються інтенсивним накопиченням лізофосфатидилхоліну та порушенням балансу медіаторних фосфоліпідів.

Встановлено виражену видоспецифічність у стратегіях перебудови жирнокислотного профілю у досліджуваних видів риб. Тканини карася демонструють масштабне структурне ремоделювання зі значним зростанням загальної частки поліненасичених жирних кислот та індексу ненасиченості. Натомість щука реагує на токсичний вплив консервативніше, без масштабних змін показників інтегральних ліпідних індексів, виявляючи лише точкові зміни в рівнях окремих мононенасичених та насичених жирних кислот.

Виявлено деструктивні зміни в архітектоніці клітинних мембран, які є універсальним наслідком інтоксикації. Спостерігається антагонізм між основними класами структурних фосфоліпідів, що призводить до зростання мікров'язкості ліпідного бішару. Встановлено, що зростання рівнів холестеролу та сфінгомієліну у тканинах риб супроводжується зниженням текучості клітинних мембран, що є свідченням зростання їхньої структурної ригідності у відповідь на токсичний вплив. Масове накопичення продуктів деградації, зокрема лізофосфатидилхоліну, свідчить про активацію фосфоліпазних систем. Крім того, в умовах стресу пул вільних жирних кислот у м'язовій тканині поповнюється переважно за рахунок руйнування структурних фосфоліпідів, а не класичного ліполізу резервних триацилгліцеролів.

Досліджено видоспецифічні особливості реакції антиоксидантної системи риб за інтоксикації іонами кобальту. Встановлено, що у карася

адаптація до токсичного навантаження забезпечується антиоксидативною гіперкомпенсацією – суттєвим зростанням пулу загального глутатіону та активності глутатіон-S-трансферази, що ймовірно, протидіє пероксидному окисненню ліпідів. Натомість у щуки дія кобальту індукує некомпенсований оксидативний стрес: інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів на тлі критичного зниження рівня глутатіону, попри часткову компенсаторну активацію каталази та глутатіон-S-трансферази.

Дослідження розкриває комплексні механізми біохімічної адаптації та токсичного ураження тканин риб за умов акумуляції кобальту. Встановлено, що метаболічна відповідь формується на основі процесів ліпідного ремоделювання, вільнорадикальної деструкції та реакції систем антиоксидантного захисту, причому характер цих змін фундаментально залежить від екологічної спеціалізації виду та функціональної ролі конкретної тканини.

За допомогою кореляційного аналізу виявлено видоспецифічність векторів метаболічної відповіді на накопичення кобальту. Зокрема, у тканинах карася зафіксовано достовірні прямі кореляції (за коефіцієнтом Пірсона) між пулом кобальту та інтегральними показниками ліпідного обміну – індексом ненасиченості та загальним вмістом поліненасичених жирних кислот. На противагу цьому, у щуки акумуляція токсиканта не має достовірних зв'язків із індексами співвідношення жирних кислот, однак демонструє сильні позитивні кореляції зі специфічними маркерами мембранної деструкції (зокрема лізофосфатидилхоліном) та чинниками мікров'язкості (сфінгомієліном).

Доведено селективний характер вільнорадикальної деструкції ліпідів в умовах токсичного стресу. Інтенсифікація процесів пероксидного окиснення ліпідів спрямована на виснаження високоненасичених кислот: докозагексаєнової (22:6) у карася та ейкозапентаєнової (20:5) у щуки. Крім того, продукти пероксидного окиснення ліпідів мають значущі зворотні зв'язки із загальним пулом фосфоліпідів та триацилгліцеролів, що

математично підтверджує механізм використання як енергетичних, так і структурних ліпідів в умовах оксидативного стресу.

Аналіз взаємозв'язків антиоксидантної системи з ліпідним профілем виявив стабільні негативні кореляції між пулом загального глутатіону та сумарною кількістю поліненасичених жирних кислот у м'язах карася. Ця закономірність є прямим доказом постійного виснаження тілового захисту, спрямованого на нейтралізацію пероксидів поліненасичених жирних кислот. Крім того, ферментативна ланка характеризується різноспрямованими зв'язками: глутатіон-S-трансфераза у щуки зворотно корелює із вмістом кобальту, що доводить факт токсичного інгібування ферменту важким металом.

Модуляції ліпідного складу та системи антиоксидантного захисту можуть бути використані як надійні біомаркери фізіологічного статусу гідробіонтів за умов токсичного впливу підвищених концентрацій іонів важких металів, зокрема кобальту. Комплексне застосування зазначених біохімічних показників забезпечує об'єктивну оцінку адаптаційного потенціалу та резистентності іхтіофауни до токсичного навантаження, створюючи наукове підґрунтя для прогнозування екологічних наслідків і структурно-функціональних змін у гідробіоценозах за умов антропогенного забруднення.

**Ключові слова:** *прісноводні риби, зябра, печінка, м'язи, гідроекосистеми, екотоксикологія, метали, кобальт, токсичність, адаптація, антиоксиданти, ліпіди, жирні кислоти, оксидативний стрес, пероксидне окиснення ліпідів*

## ABSTRACT

**Markiv V. S.** Features of Lipid Composition and Antioxidant System Status in Freshwater Fish Exposed to Cobalt Ions. Qualifying scientific work, rights as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 Biology.  
– Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ternopil, 2026.

Given the current escalation of anthropogenic stressors in the aquatic environment, the bioaccumulation of heavy metals has become a critical environmental and toxicological problem, necessitating a comprehensive study of the adaptive and compensatory responses of aquatic organisms. The influx of cobalt ions into aquatic ecosystems is largely due to industrial effluents generated by mining, metallurgy, and the production of batteries, pigments, catalytic agents and magnetic components. The cumulative impact of these industrial sources regularly leads to local exceedances of predicted safe concentrations of cobalt ions. Cobalt is an essential trace element, whereas exposure to supraphysiological concentrations has a pronounced toxic effect on aquatic organisms, causing destabilisation of the lipid profile and disruption of the antioxidant system. Therefore, the aim of this thesis was to determine the individual fractions of the lipid composition and the state of the antioxidant system in crucian carp and pike under the influence of elevated concentrations of cobalt ions in water.

Under model conditions, the lipid composition, the state of the antioxidant system and lipid peroxidation in the gill, liver and muscle tissues of the silver crucian carp (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) and the common pike (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) under the influence of cobalt ions at concentrations of 0.1 mg/dm<sup>3</sup> and 0.25 mg/dm<sup>3</sup> over a period of 14 days. The experimental studies were conducted at the Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University between 2022 and 2026.

A significant accumulation of cobalt ions was observed in the muscles and liver, and to a lesser extent in the gills, of the fish studied when exposed to elevated concentrations of the metal in the water. It was established that the dynamics of lipid

composition in fish tissues under the influence of cobalt exhibit a pronounced dose-dependent, species- and tissue-specific character. It has been shown that toxic loading induces a redistribution of structural and energy reserves, leading to the accumulation of total lipids in the liver and their depletion in muscle tissue.

It has been established that changes in the lipid profile of the gills are more pronounced in pike, particularly when exposed to the highest concentration of cobalt ions tested. In particular, the changes are characterised by an increase in the proportion of phospholipids, non-esterified fatty acids and diacylglycerols due to the depletion of the pool of cholesterol, triacyl- and monoacylglycerols. In contrast, in crucian carp gills, the response is less intense and is limited to a reduction in cholesterol levels and a tendency towards the accumulation of lipolysis products – monoacylglycerols and non-esterified fatty acids.

It has been demonstrated that the alteration in the lipid composition of fish livers under the influence of cobalt ions is species-specific and manifests itself in divergent changes in the ratios of individual lipid fractions. A decrease in the proportion of phospholipids and triacylglycerols has been recorded against a background of increased cholesterol content and intensified lipid hydrolysis processes, as evidenced by the accumulation of mono- and diacylglycerols and non-esterified fatty acids.

Common trends were observed in the transformation of the pool of non-polar lipids in the muscle tissue of both fish species under the influence of the metal ions under study, manifested by the degradation of triacylglycerols against a background of increased accumulation of non-esterified fatty acids. The metabolic response of pike muscle was characterised by depletion of cholesterol and diacylglycerol reserves. In contrast, in crucian carp, a decrease in the content of phospholipids (at both metal concentrations) and monoacylglycerols (under the influence of a higher concentration of cobalt ions in the water) was recorded.

It has been demonstrated that the structural reorganisation of the phospholipid composition in the tissues of the fish species studied is species-specific and dose-dependent under the influence of cobalt ions. An adaptive response of the gills in

both species has been identified, consisting of an increase in the proportion of phosphatidylcholine against a background of reduced sphingomyelin and phosphatidylethanolamine content. It has been shown that in pike, changes occur in the membrane structures of the liver and muscles, accompanied by an intense accumulation of lysophosphatidylcholine and an imbalance in mediator phospholipids.

A marked species-specificity has been observed in the strategies for restructuring the fatty acid profile in the fish species studied. The tissues of crucian carp exhibit extensive structural remodelling, with a significant increase in the overall proportion of polyunsaturated fatty acids and the unsaturation index. In contrast, pike respond to toxic effects more conservatively, without major changes in integral lipid indices, showing only minor changes in the levels of individual monounsaturated and saturated fatty acids.

Destructive changes in the architecture of cell membranes have been identified, which are a universal consequence of intoxication. Antagonism is observed between the main classes of structural phospholipids, leading to an increase in the microviscosity of the lipid bilayer. It has been established that increased levels of cholesterol and sphingomyelin in fish tissues are accompanied by a decrease in the fluidity of cell membranes, which indicates an increase in their structural rigidity in response to toxic effects. The massive accumulation of degradation products, in particular lysophosphatidylcholine, indicates activation of phospholipase systems. Furthermore, under stress conditions, the pool of free fatty acids in muscle tissue is replenished primarily through the breakdown of structural phospholipids, rather than through the classical lipolysis of reserve triacylglycerols.

The species-specific characteristics of the fish antioxidant system's response to cobalt ion toxicity were investigated. It was found that in crucian carp, adaptation to toxic stress is achieved through antioxidant hypercompensation – a significant increase in total glutathione pools and glutathione-S-transferase activity, which likely counteracts lipid peroxidation. In contrast, in pike, the action of cobalt induces uncompensated oxidative stress: an intensification of lipid peroxidation processes

against a background of a critical reduction in glutathione levels, despite partial compensatory activation of catalase and glutathione-S-transferase.

The study reveals the complex mechanisms of biochemical adaptation and toxic damage to fish tissues under conditions of cobalt accumulation. It has been established that the metabolic response is shaped by processes of lipid remodelling, free-radical destruction and the reaction of antioxidant defence systems, with the nature of these changes fundamentally depending on the ecological specialisation of the species and the functional role of the specific tissue.

Correlation analysis revealed species-specificity in the metabolic response vectors to cobalt accumulation. In particular, in crucian carp tissues, significant positive correlations (according to Pearson's coefficient) were observed between the cobalt pool and integral indicators of lipid metabolism – the unsaturation index and the total content of polyunsaturated fatty acids. In contrast, in pike, the accumulation of the toxicant shows no significant correlations with fatty acid ratio indices, but shows strong positive correlations with specific markers of membrane destruction (in particular, lysophosphatidylcholine) and microviscosity factors (sphingomyelin).

The selective nature of free-radical lipid destruction under conditions of toxic stress has been demonstrated. The intensification of lipid peroxidation processes is directed towards the depletion of highly unsaturated fatty acids: docosahexaenoic acid (22:6) in crucian carp and eicosapentaenoic acid (20:5) in pike. Furthermore, the products of lipid peroxidation have significant feedback interactions with the total pool of phospholipids and triacylglycerols, which mathematically confirms the mechanism of utilisation of both energy and structural lipids under conditions of oxidative stress.

An analysis of the relationship between the antioxidant system and the lipid profile revealed consistent negative correlations between total glutathione levels and the total content of polyunsaturated fatty acids in crucian carp muscle. This pattern provides direct evidence of the constant depletion of thiol defence mechanisms aimed at neutralising peroxides of polyunsaturated fatty acids. Furthermore, the enzymatic pathway is characterised by bidirectional relationships: glutathione-S-

transferase in pike inversely correlates with cobalt content, which demonstrates the fact of toxic inhibition of the enzyme by the heavy metal.

Changes in lipid composition and the antioxidant defence system can be used as reliable biomarkers of the physiological status of aquatic organisms under conditions of toxic exposure to elevated concentrations of heavy metal ions, particularly cobalt. The comprehensive application of these biochemical indicators provides an objective assessment of the adaptive potential and resistance of ichthyofauna to toxic stress, establishing a scientific basis for predicting ecological consequences and structural-functional changes in aquatic communities under conditions of anthropogenic pollution.

**Keywords:** *freshwater fish, gills, liver, muscles, hydroecosystems, ecotoxicology, metals, cobalt, toxicity, adaptation, antioxidants, lipids, fatty acids, oxidative stress, lipid peroxidation*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Марків, В. С., Хоменчук, В. О., & Курант, В. З. (2024). Накопичення кобальту в організмі прісноводних риб за його підвищеного вмісту у воді. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, (6), 78–82. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.06.078>
2. Марків, В. С. та Вовчек, Н. О. (2024). Кобальт у водних екосистемах: Форми знаходження, біологічне значення та токсичність для риб. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, 84(2), 58–73. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.24.2.7>
3. Markiv, V. S., Khomenchuk, V. O., & Kurant, V. Z. (2025). Influence of elevated concentrations of cobalt ions on content of non-polar lipids in freshwater fish tissues. *Hydrobiological Journal*, 61(6), 69–79. <https://doi.org/10.1615/hydrobj.v61.i6.50>
4. Markiv, V. S., Petrushka, B. M., Khomenchuk, V. O., & Kurant, V. Z. (2025). 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*, 27(3), 61–67. <https://doi.org/10.15407/animbiol27.03.061>
5. Марків, В. С. (2025). Біомаркери окисного стресу у карася та щуки за дії іонів кобальту. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, 85(3), 13–19. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.25.3.2>
6. Марків, В. С., Хоменчук, В. О., та Курант, В. З. (2026). Фосфоліпідний склад тканин прісноводних риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту. *Гідробіологічний журнал*, 62(1), 66–77.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Курант В. З., Хоменчук В. О., Марків В. С., Вовчек Н. О. Вміст кобальту в прісних поверхневих водах та його біологічна роль в організмі риб // Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2022 : матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції (4–5 листопада 2022 р.). Тернопіль : Вектор, 2022. С. 72-75. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/27846>
2. Марків В. С. Загроза забруднення водного середовища важкими металами: перспективи вирішення проблеми (на прикладі кобальту) // Ціннісні орієнтири в сучасному світі: теоретичний аналіз та практичний досвід : збірник тез V Міжнародної науково-практичної конференції (11-12 травня 2023 року, м. Тернопіль). Тернопіль : ФОП Осадца Ю. В., 2023. С. 393-396. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/30218>
3. Марків В. С., Хоменчук В. О., Рабченюк О. О., Поляний Б. Б., Курант В. З. Особливості вмісту неполярних ліпідів в організмі прісноводних риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту (II) // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023 : матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції (11–13 травня 2023 р.). Тернопіль : Вектор, 2023. С. 258-261. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/29678>
4. Марків В. С., Хоменчук В. О., Семенюк О. І., Курант В. З. Використання показників ліпідного обміну риб для біоіндикації забруднення гідроекосистем іонами кобальту // Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти: Збірник матеріалів II Міжнародної науково-технічної конференції. (Тернопіль 24–25 травня 2023 року) / М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-т ім. І. Пулюя (та ін.). – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2023. – 109 с. <http://elartu.tntu.edu.ua/handle/lib/42205>
5. Марків В. С., Хоменчук В. О., Росовський Т. А., Курант В. З. Фосфоліпідний склад тканин щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту // Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024 :

- матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 18-19 квітня 2024 р.), С. 172-175. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/34065>
6. Марків В. С., Хоменчук В. О., Іваніцький Б. О., Курант В. З. Особливості вмісту ліпідів в тканинах щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту (II) // Сучасні проблеми біології, екології та хімії : матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Запоріжжя, 25–27 квіт. 2024 р.). Запоріжжя : Поліграфічний центр «СоруArt», 2024. С. 32–34.
  7. Хоменчук В. О., Марків В. С., Вовчек Н. О., Іваніцький Б. О., Курант В. З. Склад жирних кислот м'язів карася за дії сублетальних концентрацій іонів кобальту // Екологічний стан навколишнього середовища та раціональне природокористування в контексті сталого розвитку : матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (24–25 жовтня 2024 року, м. Херсон) / ХДАЕУ. – Одеса : Олді+, 2024. С. 286-288.
  8. Марків В. С., Хоменчук В. О., Мяхкота О. П., Курант В. З. Порівняльна характеристика фракційного складу фосфоліпідів у тканинах карася і щуки за дії сублетальних концентрацій іонів кобальту // Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2025 : матеріали VIII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 01-02 травня 2025 р.), С. 166-170. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/38077>
  9. Марків В. С., Петрушка М. Б., Хоменчук В. О., Курант В. З. Вплив іонів кобальту на жирнокислотний склад м'язів прісноводних риб // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: Матеріали XV Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (м. Київ 17–19 вересня 2025 р.), С. 97-101.

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ .....	12
ЗМІСТ .....	15
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	25
1.1. Роль кобальту у фізіологічних процесах в організмі тварин.....	25
1.2. Кобальт і його токсикологічні наслідки у водних екосистемах .....	30
1.3. Методи аналізу та контролю кобальту в гідроекосистемах .....	37
1.4. Вплив важких металів на ліпідний обмін риб.....	42
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	48
2.1. Умови утримання риб та відбір зразків тканин .....	48
2.2. Визначення вмісту металів у тканинах риб .....	49
2.3. Біохімічні методи дослідження .....	50
2.4. Статистичні методи обробки результатів дослідження .....	54
РОЗДІЛ III. НАКОПИЧЕННЯ І ПЕРЕРОЗПОДІЛ ІОНІВ КОБАЛЬТУ В ОРГАНІЗМІ КАРАСЯ ТА ЦУКИ .....	56
РОЗДІЛ IV. ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ТКАНИН ЗЯБЕР, ПЕЧІНКИ ТА М'ЯЗІВ РИБ ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ ІОНАМИ КОБАЛЬТУ .....	60
4.1. Загальний вміст ліпідів .....	61
4.2. Неполлярні ліпіди.....	63
4.3. Фосфоліпіди.....	69
4.4. Зміни жирнокислотного складу м'язів риб за дії іонів кобальту.....	75

РОЗДІЛ V. ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ КОБАЛЬТУ НА СТАН АНТИКОСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПЕРОКСИДНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ РИБ .....	86
5.1. Загальна антиоксидантна активність у тканинах риб .....	87
5.2. Активність каталази у печінці риб .....	89
5.3. Активність глутатіон-S-трансферази у тканинах риб .....	90
5.4. Вміст загального глутатіону у тканинах риб .....	92
5.5. Пероксидне окиснення ліпідів у тканинах риб .....	94
РОЗДІЛ VI. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	98
6.1. Аналіз співвідношень фракцій ліпідів і жирних кислот за дії іонів кобальту. ....	98
6.3. Акумулявання кобальту як чинник токсичності в організмі риб .....	110
ВИСНОВКИ .....	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	133

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЗВЛ – загальний вміст ліпідів

МАГ – моноацилгліцероли

ДАГ – диацилгліцероли

ТАГ – триацилгліцероли

ХЛ – холестерол

НЕЖК – неестерифіковані жирні кислоти

ФЛ – фосфоліпиди

ЛФХ – лізофосфатидилхолін

СФМ – сфінгомієлін

ФХ – фосфатидилхолін

ФС – фосфатидилсерин

ФІ – фосфатидилінозитол

ФЕА – фосфатидилетаноламін

НЖК – насичені жирні кислоти

МНЖК – мононенасичені жирні кислоти

ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти

ІН – індекс ненасиченості

ІЯЛР — індекс якості ліпідів риби

АФК – активні форми кисню

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

ТБК – тіобарбітурова кислота

САТ – каталаза (catalase)

ТАС — загальна антиоксидантна активність

GST — глутатіон-S-трансфераза

GSH — загальний глутатіон

## ВСТУП

Забруднення прісноводних гідроекосистем важкими металами є однією із найактуальніших проблем сучасної екотоксикології. Поступове накопичення цих елементів посилюється інтенсифікацією промислової діяльності, викидами стічних вод та утилізацією техногенних відходів. Отриманий екологічний ризик суттєво збільшується через властиву важким металам схильність до біоаккумуляції та подальшої біомагніфікації у водних харчових ланцюгах (Jovičić et al., 2024; Rajeshkumar et al., 2018; Sauliutė et al., 2020). На відміну від багатьох органічних забруднювачів, важкі метали за своєю елементарною природою не піддаються біодеградації. Вони зберігаються у товщі води та донних відкладеннях протягом тривалого часу, слугуючи довгостроковими токсикологічними резервуарами, що порушують структурну та функціональну стабільність гідроекосистем (Kovacik et al., 2025).

Кобальт відіграє роль життєво важливого біологічного мікроелементу, який широко інтегрований у сільське господарство та світове промислове виробництво. Він надзвичайно важливий через свою структурну роль у жароміцних суперсплавах, необхідних для реактивних двигунів, а також як ключовий компонент сучасних акумуляторних систем та магнітів (Genchi et al., 2023; Stubblefield et al., 2020). Незважаючи на важливі біохімічні функції  $\text{Co}^{2+}$  як невід'ємного компонента кобаламіну та необхідного кофактора для багатьох ферментативних систем (таких як мутази, трансферази, гідратази, дегідратази, дегідрогенази), базова його потреба для підтримки нормальної життєздатності клітин обмежується лише слідовими рівнями (Вовчек, 2024; González-Montaña et al., 2020). Збільшення рівня цього металу у водному середовищі та його накопичення у тканинах гідробіонтів зумовлюють виражений екотоксикологічний ефект, що становить загрозу для структурно-функціональної цілісності прісноводних популяцій (Bejaoui et al., 2024; Ghribi et al., 2025).

Оскільки прісноводні риби постійно піддаються впливу важких металів, вони часто використовуються як тестові об'єкти у екотоксикологічних дослідженнях (Helczman et al., 2024; Shahjahan et al., 2022). Біоаккумуляція та подальша токсичність цих поллютантів в організмі кісткових риб мають багатогранний фізіологічний та біохімічний ефект. Важкі метали, зокрема кобальт, здатні індукувати надмірну генерацію активних форм кисню, насамперед супероксид-аніон-радикала та гідроксильного радикала, через механізми типу реакції Фентона (Chen & Lin, 2025). Наслідком цього може стати дестабілізація антиоксидантного захисту та ініціація пероксидного окиснення ліпідів, що призводить до порушення структурної цілісності поліненасичених жирних кислот мембранних фосфоліпідів (Haseeb et al., 2022; Lushchak, 2015).

Карась та щука є традиційними модельними об'єктами в екотоксикологічних дослідженнях, що зумовлено їхньою широкою розповсюдженістю та репрезентативністю для прісноводних екосистем. Вибір цих видів риб обґрунтований відмінностями їхнього трофічного статусу, екологічних ніш та адаптивних можливостей, що дозволяє здійснити комплексну оцінку як процесів біоаккумуляції важких металів, так і їхньої подальшої трофічної біомагніфікації (Đikanović et al., 2016). Пряме порівняння біохімічних показників, ліпідомних профілів та маркерів оксидативного стресу у резистентного консумента низького трофічного рівня та вразливого вищого хижака дозволяє розкрити комплексні механізми токсичної дії іонів кобальту.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась у межах науково-дослідної держтематика «Дослідження токсикорезистентності прісноводних риб до дії чинників водного середовища» № 0122U001543 (науковий керівник проф. Курант В. З.), міжнародного проекту NATO SPS Multiyear Research Project G6094 та проекту МОН України від молодих вчених «Оцінка впливу мілітарного забруднення

на безпечність річково-басейнових систем на основі біореакцій та математичного моделювання».

**Метою дисертаційної роботи** було здійснити порівняльну характеристику змін окремих фракцій ліпідного складу та стану антиоксидантної системи карася та щуки за впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у воді.

Для реалізації зазначеної мети передбачались наступні **завдання**:

1. Проаналізувати особливості накопичення кобальту в зябрах, печінці та м'язах карася і щуки за концентрацій 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup> у воді;
2. Дослідити зміни вмісту загальних ліпідів та фракційного складу неполярних (ТАГ, ДАГ, МАГ, НЕЖК, ХЛ) та полярних (ФХ, ЛФХ, ФС, ФІ, ФЕА, СФМ) ліпідів у тканинах риб за дії металу;
3. Вивчити зміни жирнокислотного складу ліпідів м'язів риб та харчових індексів за дії підвищених концентрацій іонів кобальту;
4. Оцінити вплив підвищених концентрацій Co<sup>2+</sup> у воді на ферментативні та неферментативні біомаркери оксидативного пошкодження у досліджуваних тканинах карася та щуки;
5. Виявити міжвидові особливості адаптивно-компенсаторних реакцій досліджуваних видів риб у відповідь на оксидативний стрес, індукований іонами кобальту;
6. Встановити наявність кореляційних зв'язків між вмістом кобальту, частками фракцій ліпідів, показниками пероксидного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи за дії підвищених концентрацій іонів кобальту;
7. Проаналізувати кореляційні закономірності між рівнем токсичного навантаження кобальтом і змінами структурно-функціонального стану тканин риб для розробки критеріїв біотестування водного середовища.

**Об'єкт дослідження:** адаптивно-компенсаторні реакції прісноводних риб за інтоксикації металами.

**Предмет дослідження:** фракційний склад ліпідів та стан антиоксидантної системи риб за впливу сублетальних концентрацій іонів кобальту.

**Методи дослідження:** загальноприйняті методи відбору тканин, центрифугування, ваговий (загальний вміст ліпідів), спектрофотометричні (визначення концентрації металів, активності ферментів, пероксидного окиснення ліпідів, загального вмісту глутатіону), тонкошарова хроматографія (фракціонування ліпідів), газова хроматографія (кількісне визначення жирних кислот), методи математичної статистики (W-критерій Вілкоксона або t-критерій Стюдента, коефіцієнт лінійної кореляції Пірсона).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше встановлено закономірності перебудови ліпідного складу, інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та функціонування антиоксидантної системи у карася та щуки за дії іонів кобальту. Встановлено міжвидові особливості адаптивної відповіді: доведено, що вища екологічна резистентність карася (як еврифага-бентофага) корелює з меншою кількістю вірогідних відхилень у ліпідному складі та стабільнішою роботою антиоксидантної системи порівняно з високочутливим хижаком — щукою. Робота розширює уявлення про видову чутливість риб до важких металів, що раніше вивчалось переважно на окремих моделях (наприклад, короп або даніо реріо).

Комплексно охарактеризовано систему «ліпіди – пероксидне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист», що дозволяє описати механізм токсичності  $Co^{2+}$  як єдиний процес: кобальт → активні форми кисню → пероксидне окиснення ліпідів → перебудова ліпідів → активація антиоксидантної системи захисту. Встановлено видоспецифічність стратегій структурного ремоделювання жирнокислотного профілю тканин риб у відповідь на токсичний вплив кобальту. Розширено уявлення про кобальт як екотоксикант, зокрема що він впливає не тільки на оксидативний статус, а й на харчову цінність риби через зміну у співвідношенні жирних кислот.

З'ясовано, що головними мішенями пероксидного окиснення ліпідів виступають есенціальні високоненасичені жирні кислоти: докозагексаєнова (22:6) у карася та ейкозапентаєнова (20:5) у щуки, що призводить до їх виснеження та зниження харчової цінності рибної продукції.

Вперше розкрито механізми порушення архітекtonіки клітинних мембран та мобілізації ліпідних резервів. На основі кореляційного аналізу доведено, що в умовах стресу пул неестерифікованих жирних кислот поповнюється переважно за рахунок деструктивного фосфоліпазного гідролізу структурних мембранних фосфоліпідів (із масивним накопиченням лізофосфатидилхоліну), а не шляхом класичного ліполізу резервних триацилгліцеролів.

Розширено уявлення про функціонування антиоксидантної та детоксикаційної систем риб за умов хронічного токсичного навантаження. Встановлено наявність антагонізму між пулом загального глутатіону та легкоокиснюваних ПНЖК. Виявлено дивергентну реакцію ферменту глутатіон-S-трансферази: здатність до компенсаторної активації у тканинах карася та виражене токсичне інгібування кобальтом у щуки.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати дослідження мають важливе практичне значення для екологічного моніторингу, рибного господарства, а також у розвитку науково-освітнього напрямку. Параметри ліпідного профілю, рівень продуктів ПОЛ, стан ферментативної та неферментативної систем антиоксидантного захисту можуть слугувати чутливими біомаркерами оксидативного стресу у риб та використовуватися у системах біомоніторингу якості водного середовища. Результати дослідження доцільно використовувати у практиці рибного господарства для оцінки фізіологічного стану риб та моделювання наслідків антропогенної трансформації середовища на їх метаболічні процеси і продуктивність. Виявлені зміни жирнокислотного складу можуть бути враховані при оцінці харчової та біологічної цінності рибної продукції за умов дії кобальту.

Отримані дані можуть використовуватися при розробці науково обґрунтованих підходів до нормування вмісту кобальту у водних об'єктах та вдосконаленні систем екологічного контролю. Крім того, встановлені механізми взаємозв'язку між процесами пероксидного окиснення ліпідів, перебудовою жирнокислотного складу та активністю антиоксидантної системи можуть бути корисні у подальших експериментальних дослідженнях для оцінки дії інших екоотоксикантів та пошуку ефективних шляхів корекції оксидативного стресу.

Результати роботи також можуть бути впроваджені у навчальний процес при викладанні дисциплін «Біохімія», «Гідробіологія», «Водна токсикологія», «Експериментальна екологія», «Екологічний моніторинг» для здобувачів закладів вищої освіти природничих спеціальностей.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто проведено аналіз наукового доробку за темою роботи, а також розроблено постановку експерименту і забезпечено повну реалізацію дослідження. Біохімічні дослідження, обговорення, аналіз та узагальнення результатів проведено спільно із співробітниками науково-дослідних лабораторій екологічної біохімії (Курант В. З., Хоменчук В. О) та хімії навколишнього середовища та біоіндикації (Горин О. І.).

**Апробація результатів роботи.** Результати дисертаційного дослідження були апробовані на міжнародних науково-практичних конференціях, зокрема:

– V Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2022», Тернопіль, Україна, 04–05 листопада 2022 р.

– V Міжнародній науково-практичній конференції «Ціннісні орієнтири в сучасному світі: теоретичний аналіз та практичний досвід», Тернопіль, Україна, 11–12 травня 2023 р.

– VI Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023», Тернопіль, Україна, 11–13 травня 2023 р.

- II Міжнародній науково-практичній конференції «Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти», Тернопіль, Україна, 24–15 травня 2023 р.
- VII Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2024», Тернопіль, Україна, 18–19 квітня 2024 р.
- VII Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії», Запоріжжя, Україна. 25-27 квітня 2024 р.
- VII Міжнародній науково-практичній конференції «Екологічний стан навколишнього середовища та раціональне природокористування в контексті сталого розвитку», Херсон, Україна. 24-25 жовтня 2024 р.
- VIII Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2025», Тернопіль, Україна, 01–02 травня 2025 р.
- XV Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології», Київ, Україна, 17–19 вересня 2025 р.

**Публікації.** За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 15 наукових праць, зокрема 6 статей у фахових виданнях (одна з яких індексується у наукометричній базі даних Scopus) та 9 тез доповідей на міжнародних науково-практичних конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Загальний обсяг дисертації становить 164 сторінки. 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.

## РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Роль кобальту у фізіологічних процесах в організмі тварин

Кобальт є перехідним елементом, який розташований у періодичній таблиці під атомним номером 27, має відносну атомну масу 58,93 та фізичну густину 8,90 г/см<sup>3</sup>. Поряд із залізом та нікелем він входить до основної тріади природних феромагнітних металів (Carocci et al., 2018; Genchi et al., 2020). Даний метал розчиняється у розведених мінеральних кислотах та активно вступає в прямі хімічні реакції з вуглецем, сіркою та фосфором. За підвищених температур метал реагує з молекулярним киснем та водяною парою, утворюючи оксид кобальту (CoO). Хоча елемент демонструє широкий спектр ступенів окиснення (від -3 до +3), переважно спостерігаються стани +2 та +3. Крім того, твердий металевий кобальт характеризується двома основними алотропними модифікаціями: гексагональною та кубічною (Betancourt-Cantera et al., 2018). Двовалентний іон кобальту (Co<sup>2+</sup>) демонструє більшу термодинамічну стабільність, ніж його тривалентний аналог (Co<sup>3+</sup>), причому останній функціонує як дуже потужний окислювач (Ahmad et al., 2016).

Кобальт є есенціальним мікроелементом для функціонування організму тварин, оскільки він бере безпосередню участь у низці ключових біохімічних та метаболічних процесів. Біологічна активність цього перехідного металу передусім зумовлена його входженням до складу вітаміну B<sub>12</sub> – складного металоорганічного комплексу, у якому іон кобальту виступає центральним атомом (Blust, 2011; Genchi et al., 2023; Lehel et al., 2023). У цій формі кобальт є критично важливим для процесів кровотворення, нормального функціонування нервової системи, а також синтезу нуклеїнових кислот та мієліну (Bellazzi & Bertolaso, 2024). Як життєво важливий водорозчинний мікронутрієнт, вітамін B<sub>12</sub> функціонує як незамінний кофактор у біосинтезі ДНК та має вирішальне значення для каталітичної активності мітохондріальної метилмалоніл-КоА-мутази, ферменту, який сприяє β-окисненню коротколанцюгових жирних кислот. Сполука має молекулярну формулу C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P та молекулярну масу 1355,4 г/моль, при цьому атом

кобальту становить лише 4,34% від загальної молекулярної маси (Genchi et al., 2023).

Структурно вирізняючись як єдиний вітамін, що координує іон кобальту, вітамін В<sub>12</sub> функціонує як обов'язковий кофактор для двох еволюційно консервативних ферментів: метіонінсинтази та метилмалоніл-КоА-мутази. Сприяючи біосинтезу та розщепленню певних аміно- та жирних кислот, а також стимулюючи амінокислотний біосинтез, ця сполука забезпечує загальний гомеостаз метаболізму на різних організаційних рівнях – від бактерій до ссавців (Mascarenhas et al., 2022). Вітамін В<sub>12</sub> діє як ключовий коензим у метаболічних процесах, які є критично важливими для збереження та відновлення нормального функціонування нервової системи (Calderón-Ospina & Nava-Mesa, 2020). Кобальт відіграє ключову роль у біосинтезі мієліну, багат шарової оболонки, яка огортає аксони нервів, забезпечуючи електричну ізоляцію та швидке поширення потенціалу дії. Крім того, кобаламін є важливим як для мієліногенезу, так і для подальшої ремієлінізації, тим самим активно сприяючи нейронній регенерації після пошкодження аксонів (Genchi et al., 2023).

Біосинтез кобаламіну, який здійснюється археями та бактеріями, є складним метаболічним процесом, що включає приблизно тридцять ферментативно-каталізованих етапів. Біосинтетичний каскад починається з амінолевулінової кислоти та продовжується через аденозилкобіринову кислоту та уропорфіриноген III. Останній є макроциклічною сполукою, яка також служить основним проміжним продуктом для інших основних тетрапіролів, включаючи гем та хлорофіл (Qi et al., 2023; Stasiuk et al., 2021). Біохімічно вітамін В<sub>12</sub> характеризується кориновим макроциклом, в якому чотири атоми азоту піролу координовано зв'язуються з центральним іоном кобальту в ступені окиснення +3. Периферія цього коринового кільця значною мірою заміщена бічними ланцюгами метилу, ацетаміду та пропіонаміду, один з яких структурно пов'язаний з диметилбензimidазольним фрагментом. Біологічна збірка кобаламіну відбувається двома різними метаболічними

шляхами – анаеробним та аеробним шляхами, які, в основному, диференціюються часовою стадією, на якій іон металу інтегрується в макроцикл (Moore et al., 2013). Відмінність між цими двома біосинтетичними шляхами полягає в хронології металювання кобальту. У той час як анаеробний механізм характеризується раннім введенням кобальту, аеробний шлях відкладає металювання до завершення всіх етапів макроциклічного метилювання, використовуючи присутність кисню для запуску необхідних реакцій відновлення (Osman et al., 2021).

Вітамін B<sub>12</sub> відіграє різноманітну роль у клітинній фізіології, беручи участь у метаболізмі гомоцистеїну, нейрохімічних процесах, біоенергетиці, дозріванні клітин та біосинтезі як ЖК, так і нуклеїнових кислот, водночас зберігаючи структурну цілісність слизової оболонки шлунково-кишкового тракту. Крім того, рівень кобаламіну нерозривно пов'язаний з підтримкою зниженого вмісту глутатіону в печінці та еритроцитах. Отже, дефіцит кобаламіну порушує антиоксидантний захист, тим самим збільшуючи сприйнятливість клітин до оксидативного стресу (Genchi et al., 2023).

Сучасні дані підкреслюють критичну роль вітаміну B<sub>12</sub> у підтримці імунологічного гомеостазу. Дефіцит кобаламіну та фолієвої кислоти, важливих для синтезу ДНК, здатний суттєво порушувати імунну функцію, погіршуючи вироблення нуклеїнових кислот та протеїнів, знижуючи активність імунних клітин та порушуючи фундаментальні метаболічні реакції, включаючи метилювання, а також цикли серину, гліцину та пурину. Крім того, дефіцит здатності до метилювання часто призводить до гіпергомоцистеїнемії – стану, який призводить до судинного запалення та є основним фактором, що сприяє перебігу різних системних захворювань (Mikkelsen & Apostolopoulos, 2019).

Ендогенна біоактивація вітаміну B<sub>12</sub> дає дві основні коферментні форми (метилкобаламін та 5'-дезоксиаденозилкобаламін) які є важливими для клітинного метаболізму. У загальному пулі вітаміну B<sub>12</sub> в організмі тварин ці функціонально важливі похідні складають 75–90% та 10–25% відповідно.

Структурно цей кофермент визначається кориновою кільцевою системою, яка хелатує центральний іон  $\text{Co}^{3+}$  через чотири плоскі атоми азоту піролу. Хоча цей макроцикл має велику схожість з похідними порфірину, що містяться в гемопротейнах, йому бракує місткового атома вуглецю між кільцями А та D, що призводить до безпосереднього міжпірольного зв'язку. Наслідкове зменшення розміру центральної порожнини має велике значення, оскільки воно значною мірою визначає унікальні фізико-хімічні властивості та хімічну поведінку координованого кобальту (Marques, 2023).

Ензимне відновлення гомоцистеїну до метіоніну підтримує гомеостаз, запобігаючи нейротоксичному та васкулотоксичному накопиченню гомоцистеїну в сироватці крові. Паралельно, безперервне надходження метіоніну стимулює важливі біологічні реакції метилювання, які визначають біосинтез ДНК, РНК та життєво важливих клітинних протеїнів (Kozyraki & Cases, 2013). Коензим  $\text{B}_{12}$  та мітохондріальний фермент метилмалоніл-КоА-мутаза беруть участь у процесі  $\beta$ -окислення жирних кислот з непарним ланцюгом (Kräutler, 2012).

Вітамін  $\text{B}_{12}$  у значних кількостях присутній у продуктах тваринного походження, зокрема в нирках і печінці, попри те, що організм ссавців не здатний до його самостійного синтезу. Вітамін  $\text{B}_{12}$  синтезується лише мікроорганізмами, присутніми у кишковій флорі (Fang et al, 2017).

Кобальтові кориноїди, що є структурними похідними вітаміну  $\text{B}_{12}$  (Govender et al., 2021), виступають ефективними каталізаторами низки органічних реакцій (Giedyk et al., 2015), а також відіграють активну роль у фотохімічних та фотобіологічних процесах (Jones, 2017; Toda et al., 2019).

Хоча кобальт є есенціальним мікроелементом як для еукаріотичних, так і для прокаріотичних організмів, у складі металопротеїнів він трапляється значно рідше порівняно з іншими перехідними металами. На сьогоднішній день ідентифіковано та детально охарактеризовано вісім некориноїдних (незалежних від корину) кобальтовмісних ферментів: метилмалоніл-КоА-карбокситрансфераза, пролідаза, метіонінамінопептидаза, нітрилгідратаза,

глюкозоізомераза, альдегіддекарбонілаза, лізин-2,3-аміномутаза та бромопероксидаза (Genchi et al., 2023).

Сучасна наука переосмислює фізіологічне значення кобальту завдяки його здатності модулювати реакцію клітин на гіпоксію в організмі риб. На молекулярному рівні цей метал блокує руйнування чинника, індукованого гіпоксією. Таким чином він імітує стан кисневого голодування, що стимулює експресію еритропоетину та запускає комплекс захисних гіпоксичних адаптацій. Ці властивості дозволяють кобальту підвищувати стійкість тканин до нестачі кисню, що робить його перспективним фармакологічним інструментом для попередньої підготовки організму до стресу (Sun et al., 2020).

На відміну від переважної більшості рослин, для яких кобальт не виконує вагомій ролі, у системі живлення тварин цей мікроелемент є життєво необхідним. Зокрема, у жуйних тварин виявлено позитивну кореляцію між вмістом кобальту та рівнем акумуляції вітаміну В<sub>12</sub> у тканинах печінки (Huwait et al., 2015). Відповідно, недостатня концентрація цього елемента в раціоні стає першопричиною розвитку низки захворювань, пов'язаних із живленням (Adriano, 1986). Біологічна роль кобальту поширюється на риб так само як і на ссавців, оскільки його дефіцит здатний провокувати серйозні порушення процесів їх росту та розвитку (Saili et al., 2021). Більшість тварин з простим шлунком, зокрема й риби, залежать від зовнішнього надходження вітаміну В<sub>12</sub>, оскільки їхня кишкова мікробіота не здатна синтезувати цей кофермент у фізіологічно достатніх обсягах. Проте здатність до ендogenous бактеріального синтезу суттєво відрізняється в залежності від виду риб. Наприклад, серед тепловодних риб мікробіом кишечника повністю покриває потребу у вітаміні В<sub>12</sub> у нільської та гібридної тиляпій, тоді як для каналного сома цього механізму виявляється недостатньо (Bereded et al., 2020; Tolas et al., 2025). Критичною умовою для кишкового синтезу кобаламіну є наявність кобальту в раціоні, потреба в якому також є видоспецифічною. Так, для тиляпії дієтична норма кобальту сягає приблизно 100 мг/кг, тоді як для малабарського

групера включення до раціону значно меншої кількості мікроелемента (10 мг/кг) виявилось достатнім для стимуляції шлунково-кишкового синтезу кобаламіну та забезпечення фізіологічної потреби організму в цьому вітаміні (Lall & Kaushik, 2021; Lin et al., 2010).

Експериментальні дослідження на рибках даніо демонструють, що дефіцит вітаміну  $B_{12}$  викликає комплекс важких фізіологічних та неврологічних розладів. На макрорівні нестача цього вітаміну проявляється когнітивними порушеннями, погіршенням пам'яті, втратою координації рухів, а також тісно асоціюється з розвитком анемії та патологіями нервової системи (Baki et al., 2018; Calderón-Ospina & Nava-Mesa, 2020; Green et al., 2017; Robea et al., 2024; Savassi et al., 2016). Критичну роль кобаламіну підтверджено на генетичній моделі риб із заблокованим механізмом внутрішньоклітинного транспорту цього вітаміну (ген *mtachc*). Такі особини страждають від вираженої затримки росту та метаболічної інтоксикації (зокрема, метилмалонової ацидемії) і здебільшого гинуть до досягнення зрілості. Ті риби, яким вдалося вижити, все одно зберігають стійкі ознаки метаболічного дисбалансу та дефекти розвитку (Venoit et al., 2021).

## **1.2. Кобальт і його токсикологічні наслідки у водних екосистемах**

Складаючи приблизно 0,0029% земної кори, цей метал не зустрічається у природі в елементарному стані через його високу реакційну здатність з атмосферним киснем та водним хлором, присутнім у гідросфері. Фізично кобальт – це блискучий метал сталевого-сірого кольору, який має спільні макроскопічні характеристики із залізом та нікелем. Кобальт і нікель входять до складу метеоритного заліза (Scott, 2020). Промисловий видобуток кобальту відбувається переважно як вторинний побічний продукт видобутку та переробки мідних, нікелевих, залізних та срібних руд. Крім того, значні невикористані запаси цього металу були виявлені в глибоководних поліметалічних конкреціях. З точки зору ядерної хімії,  $^{59}\text{Co}$  являє собою єдиний природний стабільний ізотоп елемента (Crider et al., 2023). Сполуки цього металу, особливо оксид кобальту (II) та алюмінат кобальту,

використовуються у виробництві скла та кераміки. Крім того, він є важливим компонентом конструкційних надсплавів, твердих сплавів, зносостійких та магнітних компонентів, акумуляторів, шин та спеціалізованих хімічних препаратів, таких як каталізатори, осушувачі та мила (Bilandžić et al., 2023).

Вміст кобальту у прісноводних екосистемах характеризується високою різноманітністю та залежить від рівня антропогенного навантаження. У природних, нетрансформованих водоймах концентрація металу є мінімальною і зазвичай не перевищує  $5 \text{ мкг/дм}^3$  (коливаючись від слідових кількостей на рівні  $\text{нг/дм}^3$ ). Натомість у локаціях екологічного ризику, зокрема у водоймах, які зазнають впливу шахтних стічних вод, акумуляція  $\text{Co}^{2+}$  може сягати доволі високих значень (від 3 до  $27 \text{ мг/дм}^3$ ) (Collins & Kinsela, 2010). З огляду на потенційну токсичність надлишку цього мікроелемента, його вміст у гідросфері суворо регламентується санітарними та екологічними нормативами, зокрема для питної води допустимі концентрації становлять до  $1\text{--}2 \text{ мг/дм}^3$ , стічних вод тваринницьких комплексів –  $1,0 \text{ мг/дм}^3$ , вод, призначених для зрошувального землеробства –  $0,05 \text{ мг/дм}^3$  (Genchi et al., 2023).

Токсикологічний профіль ксенобіотиків визначається їхнім деструктивним впливом на ключові параметри життєдіяльності організму, зокрема на виживання, соматичний ріст та репродуктивний потенціал. Патогенетичні механізми токсичного впливу важких металів на рівні окремих тканин риб є багатовекторними і значна їх частина дотепер залишається не до кінця розшифрованою. Кінцевий рівень акумуляції цих забруднювачів у водній біоті формується як результат динамічного балансу між інтенсивністю їх абсорбції та швидкістю екскреції (Ali et al., 2019).

У водних екосистемах важкі метали можуть перебувати у розчиненому стані, сорбуватися на завислих частинках або депонуватися в донних відкладах. Останні здатні виступати вторинним джерелом забруднення, ремобілізуючи метали назад у товщу води, звідки вони через трофічні мережі акумулюються в гідробіонтах (Alfee & Bloor, 2025; Oros, 2025).

Екотоксикологічна небезпека цих елементів залежить від їхньої хімічної специфікації. Вільні іонні форми та прості неорганічні солі проявляють значно інтенсивнішу біоактивність у порівнянні із складними неорганічними чи металоорганічними комплексами (Schlekat et al., 2020). Провідним чинником, що модулює біодоступність металів, є фізико-хімічний стан водного середовища. Зокрема, у прісних гідроекосистемах зниження рН стимулює дисоціацію та зростання вмісту вільних іонів, що суттєво посилює їхню токсичну дію. Натомість підвищення лужності та наявність неорганічних лігандів ініціюють процеси комплексоутворення, перетворюючи метали на менш біодоступні і, відповідно, менш небезпечні форми (Ture et al., 2020).

Кобальт може потрапити в організм риб шляхом дихання (з'ябра), харчування (травний тракт) та фізичного контакту з водою (шкіра) (Blust, 2011; Jovičić et al., 2023; Weber et al., 2013). Токсичність даного металу для риб є порівняно низькою, якщо говорити про вплив сполук інших металів (Kubrak et al., 2011). Значна кількість ферментів у тваринних організмах потребує присутності металів для реалізації своєї каталітичної функції. Проте навіть есенціальні мікроелементи здатні чинити токсичний вплив і загрожувати життєздатності гідробіонтів, якщо порушуються механізми їхнього зв'язування і відбувається надмірне акумулювання в тканинах (Mijošek et al. 2021; Jenkins et al., 2023). Важкі метали чинять екотоксикологічний вплив на риб, що детермінує розвиток як гострих, так і хронічних патологічних станів за умов прогресуючого накопичення цих забруднювачів у тканинах водних мешканців (Chen et al., 2020).

Фонові концентрації  $\text{Co}^{2+}$  у природних гідроекосистемах здебільшого залишаються нижчими за летальний поріг для більшості прісноводних костистих риб (Alves Miranda et al., 2025). Проте екотоксикологічні дослідження демонструють виражену видоспецифічну чутливість гідробіонтів до цього металу. За даними фахової літератури, найвищу вразливість до інтоксикації іонами кобальту виявляють представники родини лососевих. Критичні дози для райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*) та чавичі

(*Oncorhynchus tshawytscha*) фіксуються на наднизькому рівні – 0,2 мг/дм<sup>3</sup> і 0,02 мг/дм<sup>3</sup> іонів згаданого металу у воді відповідно. Детальний аналіз динаміки токсичності Co<sup>2+</sup> райдужної форелі показує, що напівлетальні концентрації (LC50) тісно залежать від тривалості експозиції та стадії онтогенезу. Так, за хронічної 28-добової дії LC50 становить 470–490 мкг/дм<sup>3</sup>, під час 144-годинного тестування мальків — 520 мкг/дм<sup>3</sup>, а в умовах гострого 96-годинного стресу — 1406 мкг/дм<sup>3</sup> (Kocabaş & Kutluyer, 2017; Marr et al., 1998; Pane et al., 2005). Для порівняння, такі види, як золота рибка (*Carassius auratus*) та товстоголов (*Pimephales promelas*), які часто є модельними об'єктами у дослідженнях сублетальних впливів важких металів, відзначаються колосальною резистентністю. За дії хлориду кобальту показник 96-годинної LC50 для *C. auratus* становить 333 мг/дм<sup>3</sup>, що на декілька порядків перевищує поріг толерантності лососевих (Kubrak et al., 2011).

Одним із головних механізмів субклітинної токсичності іонів кобальту є індукція оксидативного стресу. За даними авторів (Ghribi et al., 2025) надлишок цього металу стимулює гіперпродукцію АФК, зокрема пероксиду водню, що призводить до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Цей стан супроводжується інтенсивним пошкодженням клітинних макромолекул, про що свідчить стрімке зростання продуктів пероксидного окиснення ліпідів (зокрема малонового діальдегіду або ТБК-активних речовин) та окиснювальної модифікації білків (карбонільних похідних). У відповідь на прооксидантний дисбаланс в організмі відбувається компенсаторна активація системи антиоксидантного захисту, зокрема спостерігається зростання активності супероксиддисмутази, глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази, а також збільшення вмісту глутатіону і металотіонеїнів, особливо за високих доз токсиканту (100-500 мкг/дм<sup>3</sup>) (Vejaoui et al., 2024).

Окрім оксидативного пошкодження, дія кобальту може спричиняти дестабілізацію клітинного гомеостазу через порушення ліпідного обміну та іонного балансу. Під впливом металу відбувається перебудова профілю

жирних кислот – зокрема, зростає рівень поліненасичених жирних кислот (зокрема таких як арахідонова, ейкозапентаєнова та докозагексаєнова). Хоча такі зміни можуть розглядатися як адаптивний механізм, спрямований на збереження цілісності та плинності клітинних мембран, вони водночас підвищують вразливість ліпідів до пероксидації. Паралельно з цим, накопичення кобальту призводить до достовірного інгібування ключових мембранозв'язаних ферментів —  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази та  $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ -АТФази. Пригнічення активності цих ензимів зумовлює осмотичний дисбаланс та порушує процеси клітинної осморегуляції (Ghribi et al., 2025).

Експозиція кобальтом має виражений нейротоксичний ефект, на що вказує достовірне зниження активності ферменту ацетилхолінестерази у піддослідних особин коропа (Bejaoui et al., 2024). Метаболічні порушення, індуковані впливом  $\text{Co}^{2+}$ , неминуче трансформуються у структурні патології на тканинному рівні. Доведено, що прооксидантний дисбаланс та осморегуляторна недостатність супроводжуються вираженими гістоморфологічними змінами у зябрах та печінці риб (Bejaoui et al., 2024; Ghribi et al., 2025).

Таким чином, динаміка токсичного впливу іонів кобальту характеризується мультисистемним ураженням гідробіонтів, що базується на комплексі деструктивних біохімічних процесів. На тканинному рівні хронічна експозиція цього металу ініціює каскад патологічних змін: від затримки соматичного росту до вираженої деструкції епітеліального бар'єра кишечника та глибокого дисбіозу кишкової мікробіоти, що було наочно продемонстровано на моделі ракоподібних (*Litopenaeus vannamei*) (Chen et al. 2020). Головним стимулом цих патологій є інтенсивний оксидативний стрес. Дослідження *in vitro* підтверджують, що окислювально-відновні іони кобальту виступають потужним каталізатором у реакціях, подібних до реакції Фентона. Взаємодіючи з ендogenous перексидом водню, кобальт індукує масивну генерацію активних форм кисню, що неминуче призводить до генотоксичних

наслідків – фрагментації та прямого пошкодження молекул ДНК (Jenkins et al., 2023).

Окрім радикального пошкодження, ключовим механізмом цитотоксичності кобальту є явище іонної мімікрії. Метал вступає у конкурентний антагонізм з іншими есенціальними мікро- та макроелементами (такими як цинк, залізо чи кальцій) за сайти зв'язування. Таке заміщення блокує каталітичні центри металоферментів і порушує просторову конформацію макромолекул, пригнічуючи їхню нормальну фізіологічну функцію (Jenkins et al., 2023). В організмі риб ця різнонапрявлена токсичність проявляється через патологічні зрушення гематологічного профілю, системну активацію клітинного апоптозу, а також виникнення морфологічних аномалій розвитку на ранніх стадіях онтогенезу (Sun et al., 2020).

Токсикологічний профіль кобальту має виражену імуногенність, специфічну кардіотоксичність та здатність індукувати дисфункцію мітохондрій. Порівняно з іншими важкими металами (свинцем, міддю чи кадмієм), іони кобальту демонструють значно вищу гідрофільність та розчинність у фізіологічних середовищах – від плазми та сироватки крові до синовіальної, альвеолярної рідин і секретів травного тракту (Nechev et al., 2006). На молекулярно-клітинному рівні провідним патогенетичним механізмом токсичності  $Co^{2+}$  є їхній конкурентний антагонізм із  $Ca^{2+}$ . Кобальт порушує внутрішньоклітинні сигнальні каскади, блокує трансмембранний транспорт іонів кальцію та витісняє його з активних центрів кальційзв'язуючих протеїнів (Sule et al., 2020).

Оскільки кальцієвий гомеостаз є критичним для м'язового скорочення та нервової провідності, таке втручання призводить до серйозних тканинних патологій. Експериментально доведено, що експозиція наночастинок кобальту провокує розвиток міопатії, при якій спостерігається патологічне вкорочення саркомерів, дезорганізація та мікророзриви міофібрил, які згодом заміщуються нефункціональною сполучною тканиною через активну проліферацію фіброзних структур (Tan et al., 2024). Крім міотоксичності,

кобальт чинить специфічний нейротоксичний вплив на сенсорні органи гідробіонтів. Зокрема, у плітки (*Rutilus rutilus*) дія металу призводить до дисфункції рецепторів бічної лінії (невромастів). Таке блокування механорецепції нівелює здатність риби реагувати на рух здобичі або хижака у водному середовищі, що катастрофічно знижує її екологічну пристосованість (Blust, 2011; Jenkins et al., 2023).

На моделі *Danio rerio* доведено, що хронічна експозиція кобальту чинить виражений генотоксичний вплив на репродуктивну систему самців. Експериментальна дванадцятиденна інтоксикація супроводжувалася дозозалежним збільшенням кількості розривів ниток ДНК у сперматозоїдах. Це порушення цілісності генетичного матеріалу закономірно призводило до різкого падіння репродуктивного потенціалу популяції, що проявлялося у зниженні відсотка успішного запліднення ікри та падінні рівня вилуплення ембріонів. Однак цей генотоксичний ефект має зворотний характер: після шестиденного періоду знаходження у воді без токсиканту цілісність хроматину в сперматозоїдах відновлювалася до контрольних значень. Цей компенсаторний механізм забезпечується інтенсивною транскрипційною активацією генів системи репарації ДНК безпосередньо у тканинах сім'яників (Kubrak et al., 2011).

Окрім іонних форм, надзвичайну екотоксикологічну небезпеку становлять нанодисперсні форми кобальту (наночастинки), які є потужними індукторами міопатій. Гістопатологічний аналіз скелетної мускулатури риб, що зазнали впливу наночастинок кобальту, продемонстрував значне руйнування структури тканини. Ураження проявлялося у вигляді атрофії м'язових пучків, зменшення загальної площі мускулатури, падіння щільності міофібрил та патологічного розширення міжклітинного простору. На молекулярно-біохімічному рівні першопричиною цих тканинних травм є оксидативний стрес та ініціація клітинного апоптозу. Сукупність цих чинників призводить до репресії міогенних регуляторних генів – важливих елементів,

що відповідають за розвиток, диференціацію та регенерацію клітин м'язів, наслідком чого стає незворотне руйнування тканини (Tan et al., 2024).

Таким чином, вплив підвищених концентрацій кобальту спричиняє патогенетичну трансформацію ліпідного профілю гідробіонтів, яка проявляється через поєднання оксидативного стресу, іонної мімікрії та порушення метаболізму. У підсумку деструктивні процеси призводять до різновекторних уражень – від гістологічної деградації тканин і нейросенсорної дисфункції до незворотних розривів ДНК та зниження репродуктивного потенціалу риби, що суттєво підриває екологічну пластичність популяцій у забруднених водних екосистемах.

### **1.3. Методи аналізу та контролю кобальту в гідроекосистемах**

Забезпечення екологічної безпеки гідроекосистем потребує систематичного моніторингу вмісту важких металів та їхніх сполук. Необхідність такого контролю зумовлена тим, що концентрації забруднювачів у природних водах часто наближаються до критичних рівнів. Навіть за умов допустимих концентрацій тривалий вплив даних речовин може призводити до хронічної інтоксикації гідробіонтів (Islamy et al., 2025). Практична реалізація визначення конкретних фізико-хімічних форм металів стала можливою завдяки впровадженню новітніх високочутливих аналітичних методів.

Ефективність моніторингу водних екосистем залежить від валідності відбору проб та об'єктивності обробки результатів. Методологія пробовідбору для аналізу вмісту металів базується на таких основних критеріях:

- Відібраний зразок має відображати властивості досліджуваної гідроекосистеми, нівелюючи вплив сторонніх чинників на результати аналізу.
- Регламент пробовідбору, умови консервації, транспортування та підготовка зразків мають забезпечувати стабільність вмісту досліджуваних речовин і збереження вихідних фізико-хімічних параметрів води з моменту відбору до початку вимірювань.

- Проведення консервації та необхідний об'єм зразків встановлюються відповідно до протоколу обраної методики.
- Процедура відбору зразків потребує детального документування усіх супроводжуючих чинників, що можуть вплинути на об'єктивність аналізу (ДСТУ ISO 11885:2005).

Для визначення концентрації важких металів у гідробіонтів пріоритетними є такі інструментальні методи: атомно-абсорбційна спектрометрія з електротермічним перетворенням зразка в атомну пару (у графітовій печі), атомно-абсорбційна спектрометрія з полум'яним розпиленням, мас-спектрометрія (ICP-MS) та атомно-емісійна спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICP-AES) (U.S. Environmental Protection Agency, 1994).

Метод атомно-емісійної спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою характеризується високою аналітичною чутливістю, забезпечуючи виявлення елементів на рівні нижче 0,02 мкг/дм<sup>3</sup>. Натомість атомно-абсорбційна спектрометрія дає показники, з межею визначення близько 20 мкг/дм<sup>3</sup>. Для інших методів діапазони вимірювання вмісту важких металів знаходяться у межах 0,7–3 мкг/дм<sup>3</sup>.

Для визначення концентрації важких металів у воді також застосовуються фотометричні методи. Попри дещо нижчу чутливість в порівнянні з атомно-спектроскопічними підходами, вони потрібні завдяки апаратурній простоті та економічній доцільності у випадках, коли висока точність не є обов'язковою. Серед електрохімічних методів найбільш застосовується потенціометричне вимірювання з використанням іоноселективних електродів, а також інверсійна вольтамперометрія, яка вирізняється здатністю до визначення малих концентрацій металів (Lau & Cheng, 1998). У методі інверсійної вольтамперометрії метали накопичуються на електроді шляхом електролізу (Layglon et al., 2023).

Зазначені методи дозволяють визначити тільки валовий вміст металів, не враховуючи види їхніх фізико-хімічних форм у водному середовищі. Для

виокремлення форм кожного металу описані методи поєднують із техніками концентрування та розділення, зокрема: екстракцією, іонною, рідинною або газовою хроматографією і також електрохімічними методами (Borbély & Nagy, 2009).

Визначення загального вмісту важких металів як у відносно чистих природних, так і у стічних водах із високим вмістом органічного навантаження потребує попередньої підготовки проб. Найбільш розповсюдженим методом є мокра мінералізація, яка передбачає розкладання комплексоутворювачів шляхом нагрівання зразка з хлоридною кислотою (HCl) та пероксидисульфатом амонію ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). Іншим підходом є мінералізація в суміші концентрованих нітратної (HNO<sub>3</sub>) та сульфатної (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) кислот із наступним випаровуванням допоки з'явиться білий пар сульфатної кислоти (Moore & Ramamoorthy, 1984).

Чинна нормативна база України стала розширена шляхом затвердження національного стандарту, що базується на міжнародній методиці визначення ряду елементів, включаючи кобальт (ДСТУ ISO 11885:2005). Аналітичний метод базується на реєстрації інтенсивності атомно-емісійного випромінювання. Термічна активація досліджуваних атомів та ініціація їхнього світіння реалізується в індуктивно зв'язаній аргонівій плазмі, яка утворюється радіочастотним електромагнітним полем під час введення проби у формі аерозолі.

Протокол визначення валового вмісту елементів включає консервування проби безпосередньо під час відбору методом підкислення нітратною кислотою до значення рН 2. Фільтрування зразка на цьому етапі не проводиться. Аналіз виконується у максимально стислі терміни. Якщо спостерігається випадання осаду, його перетворюють у розчин шляхом кислотної обробки при нагріванні. Аналогічні дії виконуються і для контрольної проби.

Для визначення концентрації розчинених форм елементів відібрані зразки води попередньо фільтруються крізь мембранний фільтр із діаметром

пор 0,45 мкм. Отриманий фільтрат консервують шляхом підкислення концентрованою нітратною кислотою до значення  $\text{pH} < 2$ .

Для аналізу елементів у суспендованій формі фіксований об'єм тільки відібраної неконсервованої проби піддають швидкій фільтрації крізь мембранний фільтр. Фільтри із затриманими речовинами вміщують в індивідуальні стерильні контейнери для подальшого транспортування та зберігання в належних температурних умовах.

Мембранний фільтр із осадом піддають кислотній мінералізації у термостійкій склянці. До проби додають 4 мл концентрованої ( $\text{HNO}_3$ ) та нагрівають при помірній температурі під годинниковим склом до повного розчинення твердої фази. Для кращого розкладання здійснюють повторне випаровування з додаванням 3 мл ( $\text{HNO}_3$ ). Отриманий сухий залишок розчиняють у суміші 10 мл ( $\text{HCl}$ ) та 15 мл дистильованої води при слабкому нагріванні. Після охолодження та промивання стінок склянки розчин фільтрують для видалення нерозчинних часток і доводять деіонізованою водою до фіксованого об'єму. Вміст досліджуваних елементів визначають за допомогою калібрувального графіка.

Згідно з національними та міжнародними протоколами, пріоритетним методом для аналізу часто виступає атомно-абсорбційна спектроскопія (International Organization for Standardization [ISO], 1986). Згідно з міжнародним стандартом ISO 8288, дослідження вмісту металів у водних середовищах методом атомно-полум'яної абсорбційної спектрометрії здійснюється трьома основними способами. Метод А ґрунтується на безпосередньому визначенні концентрацій і застосовується для аналізу зразків із високим вмістом важких металів та мінімальним впливом матричних перешкод. Для проб зі складним або невідомим мінеральним вмістом, рекомендовано використовувати методи В або С. Зокрема, метод В передбачає екстракцію металів у формі хелатних комплексів за участі амоній піролідіндітіокарбамату та метилізобутилкетону. Метод С базується на аналогічному принципі екстракційного вилучення при  $\text{pH} 2-4$ , однак із

застосуванням системи гексаметиленамоній-гексаметилендитіокарбамату в суміші розчинників дізопропілкетон-ксилол.

Широкий спектр інструментальних методів аналізу дозволяє з високою достовірністю визначати форми міграції металів у водних об'єктах. Чутливість сучасних технік досягає дуже низьких меж виявлення (ДСТУ ISO 11885:2005). Для виявлення кобаламіну в харчових або фармацевтичних продуктах застосовується кілька методів, зокрема радіоскопія, хімілюмінесценція, високоефективна рідинна хроматографія, мас-спектрометрія, атомне поглинання, капілярний електрофорез (Gheorghe et al., 2022), а нещодавно запропонували електрохімічний ДНК-біосенсор і електрохімічний сенсор (Karastogianni & Girousi 2021; Sharma et al., 2020).

Попри високу точність новітніх інструментальних методів, отримані дані часто не дозволяють повністю оцінити якість водного середовища, зокрема у водоймах рибогосподарського призначення. Через важкість адекватно прогнозувати потенційну біологічну загрозу для гідробіонтів на основі лише загального вмісту металів. Токсична дія важких металів у водних екосистемах є функцією багатьох екологічних чинників, що визначають їхню біодоступність та специфічність впливу (ISO, 1986; Zeitoun & El-Sayed, 2014). Отже, для комплексного та інформативного аналізу екотоксикологічного стану водних об'єктів впровадження методів біоіндикації та біотестування є дуже перспективним. Використання біологічних методів в доповнення до фізико-хімічного моніторингу дозволяє об'єктивно оцінити дійсну біологічну загрозу забруднення та врахувати синергетичні ефекти впливу поллютантів.

Для моніторингу якості водних об'єктів використовують широкий спектр організмів – від одноклітинних водоростей до хребетних тварин. Вибір конкретної групи гідробіонтів як біоіндикатора визначається їхніми еколого-фізіологічними особливостями, які формують точкове реагування на присутність важких металів та визначають межі застосування відповідних методів біоіндикації.

Безперервний контакт риб із водним середовищем та їхнє знаходження у верхніх ланках трофічних ланцюгів дають високу інформативність застосування обраних тест-об'єктів з метою біоіндикації якості водного середовища. Вони є дієвим інструментом для виявлення та контролю рівнів забруднення води (Authman et al., 2015; Jenkins et al., 2014, 2023; Velma & Tchounwou, 2010).

Методи біоіндикації забезпечують повноцінне бачення екосистеми, відображаючи не лише рівень накопичення металів, а й загальний екологічний стан водойми. Ретельний підбір індикаторних видів дає змогу вчасно виявити забруднення та вживати заходів із детоксикації, що економічно ефективніше, ніж ліквідація незворотних наслідків. Перевагою гідробіонтів є здатність отримувати дані про вміст токсикантів за тривалий період, що корелює з циклом їхнього розвитку. Проте використання риб як індикаторів має деякі обмеження: стресова реакція, що є типовою відповіддю на порушення гомеостазу, може викривити результати досліджень, а в умовах аквакультури – призводить до значних економічних втрат (Pinna et al., 2023).

Біомаркери – це сигнальні індикатори, що показують реакцію біологічних об'єктів на комплексний вплив фізичних, хімічних або біологічних чинників середовища (Jenkins, et al. 2023). Для ідентифікації патологічних змін іхтіофауни використовується низка функціональних індикаторів. Вони дозволяють зафіксувати порушення метаболізму ксенобіотиків, розвиток оксидативного стресу, гормональний дисбаланс, що в сукупності відображають енергетичні витрати популяції на адаптацію до умов забруднення (Gandar et al., 2017).

Отже, розробка та практична реалізація комплексних підходів, є ключовою умовою для ефективного управління якістю водних ресурсів і своєчасного виявлення екологічних ризиків.

#### **1.4. Вплив важких металів на ліпідний обмін риб**

Важкі метали є модуляторами біохімічних процесів у гідробіонтів завдяки своїй здатності як формувати структурну основу біомолекул, так і

вступати з ними в активну взаємодію. Їхня фізіологічна роль реалізується виключно в діапазоні низьких концентрацій у тканинах риб (Saputri et al., 2023). Проте кінцевий екотоксикологічний вплив є дозозалежним і визначається хімічними властивостями металу, його концентрацією та рівнем біодоступності у гідросфері. Якщо рівень акумуляції важких металів перетинає межу фізіологічної потреби організму, розвивається інтоксикація, після чого ці елементи починають деструктивно взаємодіяти з клітинними структурами, провокуючи незворотні порушення фундаментальних життєвих процесів (Vovchek et al., 2025).

Результати застосування новітніх методів нецільової ЯМР-ліпідоміки (на прикладі *Gambusia holbrooki* з урбанізованих водно-болотних екосистем) засвідчують здатність токсикантів провокувати масштабне ремоделювання ліпідного профілю. Фундаментальною основою цих змін є індукований іонами металів оксидативний стрес, за якого інтенсивне вироблення АФК стимулює реакції пероксидного окиснення. Це призводить до хімічної деструкції структурних ліпідів, вимагаючи від організму залучення резервних метаболічних механізмів для підтримки базової життєдіяльності (Jovićić et al., 2024; Melvin et al., 2019).

Ліпіди та специфічні жирні кислоти детермінують структурну стабільність і функціональну активність клітинних мембран, детермінуючи їхню цілісність, плинність та вибірккову проникність (Banfalvi, 2016; Santos & Preta, 2018). Основою будови клітинних мембран є ліпідний бішар, сформований з амфифільних ліпідів та стеролів з інтегрованими в нього протеїновими комплексами. Виконуючи роль селективного бар'єра, вони забезпечують компартменталізацію внутрішньоклітинного простору та просторове розмежування біохімічних процесів. Сучасні концепції розглядають біомембрани як високодинамічні системи, яким притаманна виражена трансмембранна асиметрія (специфічний розподіл ліпідних та протеїнових компонентів між моношарами), що є критичною умовою для векторності та функціональної сегрегації клітинних процесів (Sule et al., 2020).

Таким чином, токсикологічний вплив металів на ліпідний спектр риб має два чітко виражені вектори: деградацію структурних компонентів та зміну пулу енергетичних резервів. З одного боку, у тканинах риб із забруднених екосистем фіксується значна дерегуляція ліпідів клітинних мембран — насамперед гліцерофосфоліпідів, сфінголіпідів та холестеролу. Це вказує на порушення структурної цілісності, плинності та функціональної активності біологічних мембран. З іншого боку, спостерігається компенсаторне або патологічне накопичення молекул, що депонують енергію, зокрема триацилгліцеролів та неестерифікованих жирних кислот. Такий перерозподіл свідчить про зміну стратегії енергетичного забезпечення організму в умовах хронічного стресу (Melvin et al., 2019).

Встановлено, що вплив екологічно релевантних концентрацій міді у водному середовищі призводить до вираженої ліпотоксичності — патологічного збільшення вмісту ліпідів та їх надмірного накопичення у тканинах. Натомість вплив цинку демонструє значний антагоністичний ефект: його присутність сприяє зниженню накопичення жирів, тим самим ефективно пом'якшуючи викликану міддю ліпотоксичність. Ключовим механізмом такої захисної дії цинку, як з'ясували автори (Wei et al., 2021), є активація ліпофагії (специфічного процесу клітинного розщеплення ліпідних крапель).

Вплив кадмію у водному середовищі викликає серйозні пошкодження ліпідного метаболізму у прісноводних риб, зокрема у *Gobiocypris rarus* (Liu et al., 2023). При експозиції концентраціями хлориду кадмію 2,0 мг/л і вище протягом 96 годин у клітинах печінки цього виду фіксується інтенсивне накопичення цитоплазматичних ліпідних крапель та їх ектопічне відкладення. Цей процес супроводжується достовірним підвищенням рівня ТАГ і ХЛ як у самій печінці, так і в сироватці крові, а також значним зростанням активності сироваткової ліпази. При цьому активність печінкової та ліпопротеїнової ліпази, а також рівень транскрипції генів, що відповідають за ліпідний обмін (зокрема матричної РНК PPAR $\alpha$ ), залишаються незмінними. За даними дослідження, це свідчить про те, що визначальним чинником масивного

накопичення ліпідів у печінці є глибоке порушення механізмів їхнього транспорту, а не зміни в процесах синтезу чи окиснення (Liu et al., 2023).

Експозиція іонами кадмію призводить до розвитку вираженого стеатозу в печінці *Channa argus*. Зокрема, у цій тканині відбувається екстенсивне накопичення ліпідних крапель та вакуолей, що супроводжується достовірним зростанням вмісту триацилгліцеролів (Chen et al., 2024). Токсичність кадмію також критично змінює активність ферментів та рівень експресії генів, відповідальних за ліпідний метаболізм, що свідчить про системну дестабілізацію жирового обміну (Zhang et al., 2024). Порушення ліпідного пулу нерозривно пов'язане з індукцією фероптозу – специфічної залізоалежної форми клітинної загибелі, механічною основою якої є неконтрольоване пероксидне окиснення ліпідів. Кадмій провокує різке зростання рівня малонового діальдегіду (головного маркера деградації ліпідів) та активних форм кисню, одночасно руйнуючи захисні антиоксидантні системи, особливо пригнічуючи глутатіонпероксидазу 4, яка в нормі захищає ліпідні мембрани від окиснення (Chen et al., 2024).

Вплив токсичних елементів (включаючи важкі метали та металоїди, такі як миш'як, кадмій, свинець і ртуть) глибоко порушує ліпідний метаболізм у м'язовій тканині прісноводних риб родини Коропових. Головним наслідком такого токсичного навантаження є суттєва зміна жирнокислотного профілю, а саме – зниження вмісту поліненасичених жирних кислот. Автори (Kovacik et al., 2025) зазначають, що механізм цієї втрати пов'язаний із процесами пероксидного окиснення ліпідів, оскільки токсичні елементи спричиняють руйнування подвійних зв'язків у молекулах ПНЖК, що неминуче призводить до подальшої хімічної деградації цих кислот. Такі викликані важкими металами метаболічні зміни мають подвійне значення. З одного боку, вони є індикатором фізіологічного стресу та порушення ліпідного обміну в самих гідробіонтів, з іншого, деградація ПНЖК знижує харчову цінність риби.

Вплив іонів важких металів, зокрема цинку та мангану, призводить до пригнічення активності сфінгомієлінсинтази та зниження рівня СФМ

(Ahmad et al., 2024; Murakami et al., 2024; Suzuki et al., 2023). Цей фосфоліпід у взаємодії з ХЛ стабілізує плазматичну мембрану та регулює її плинність (Adada et al., 2016).

Важливою функцією жирних кислот є їхня участь як попередників у синтезі регуляторних та сигнальних молекул, що контролюють клітинний метаболізм (Calder, 2015). Так, ейкозапентаєнова кислота метаболізується до ейкозаноїдів – сполук, які не лише опосередковують імунні, запальні, нейрорегуляторні та репродуктивні процеси (Poorani et al., 2016), але й сприяють ефективній адаптації організму риб до мінливих стресових умов довкілля (Kovacic et al., 2025).

На основі матеріалів статті (Oger et al., 2025), вплив метилртуті (органічної сполуки важкого металу) на метаболізм гідробіонтів є вкрай деструктивним, особливо за умов комбінованого забруднення з нанопластиком. Дослідження на личинках риб (*danio rerio*) доводить існування так званого ефекту «троянського коня»: наявність полістиролового нанопластику не лише посилює загальне накопичення метилртуті в організмі, але й специфічно перенаправляє її розподіл до тканин голови та очей. За дії такого змішаного забруднення у риб розвивається гіпоактивність, яка перешкоджає нормальному живленню та призводить до високої смертності. Згідно з висновками авторів (Oger et al., 2025), фундаментальною причиною такого різкого фізіологічного занепаду є комплексний метаболічний та неврологічний збій, однією з головних ланок якого виступає саме порушення ліпідного метаболізму. Дестабілізація жирового обміну відбувається не ізольовано, а в тісному зв'язку зі зниженням синтезу АТФ (енергетичним виснаженням клітин), порушенням нейротрансмісії та розвитком нейрозапалення. Як наслідок, ці поєднані чинники запускають дегенерацію нейронів.

Отже, токсичний вплив важких металів та їхніх сполук може викликати дестабілізацію ліпідного обміну в організмі риб, яка передусім реалізується через перебудову фракцій ліпідів та інтенсифікацію процесів їх пероксидного

окиснення. Водночас кобальт, як біогенний елемент, вимагає особливого підходу до оцінки його токсичності, оскільки його ефекти можуть бути нівельовані регуляторними системами організму або, навпаки, призводити до зриву метаболічної адаптації при перевищенні критичних концентрацій. Це зумовлює необхідність уточнення ролі саме цього металу в трансформації ліпідного обміну риб.

## РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Умови утримання риб та відбір зразків тканин

Для експериментального дослідження екотоксикологічного впливу підвищених концентрацій іонів кобальту на прісноводні екосистеми як модельні об'єкти було обрано типових представників іхтіофауни західного регіону України — карася сріблястого (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) та щуку звичайну (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) середньою масою 200-220 г та 150-170 г відповідно. Вивчено вплив двох підвищених концентрацій іонів кобальту у воді, що становили 0,1 та 0,25 мг/дм<sup>3</sup>. Вибрані концентрації металу відповідають тим, що традиційно використовуються в екотоксикологічних дослідженнях, оскільки є достатніми для викликання вимірюваної стресової реакції та подальшої фізіологічної адаптації у риб (Cai et al., 2012; Environment and Climate Change Canada & Health Canada, 2017; Kubrak et al., 2012).

Кобальт вносили у воду акваріумів об'ємом 200 дм<sup>3</sup>, де знаходилися дослідні групи риб (по п'ять особин у кожному), у вигляді хлориду кобальту ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Під час експерименту гідрохімічні показники води підтримували на стабільному рівні: концентрація  $\text{O}_2$  — 6,5–7,5 мг/дм<sup>3</sup>,  $\text{CO}_2$  — 2,1–2,7 мг/дм<sup>3</sup>, рН — 7,4–7,7, загальна твердість води — 6,7–6,8 ммоль/дм<sup>3</sup>, температурний режим —  $18 \pm 2$  °С.

З метою зниження впливу на риб їх власних екзометаболітів воду в акваріумах змінювали щодобово. Карасів і щук під час проведення дослідів не годували. Було використано 14-денний період акліматизації, щоб дозволити риbam досягти стану фізіологічного гомеостазу, максимізуючи прояв їхніх адаптивних механізмів за дії іонів кобальту (Хоменчук та ін., 2020; Nasri, 2019).

Відбір тканин зябер, передньої долі печінки та білих м'язів спини риб здійснювали за температури 4 °С. З отриманих зразків тканин відбирали наважки для: 1) спалювання у концентрованій нітратній кислоті, щоб визначити вміст кобальту у тканині; 2) екстрагування ліпідів, щоб визначити їх загальний вміст, розділити фракції неполярних ліпідів, фосфоліпідів і

жирних кислот; 3) гомогенізування у 50 мМ К-фосфатному буферному розчині (рН 7,4) (1:10 маса:об'єм), щоб виміряти перекисне окиснення ліпідів та інші показники стану антиоксидантної системи (активність каталази, глутатіон-S-трансферази, загальну антиоксидантну активність та вміст загального глутатіону). На рис. 2.1 графічно представлено схему експериментів, яка відображає їх постановку і досліджені біохімічні показники.



Рис. 2.1. Схема проведених експериментів із карасем сріблястим (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) та щукою звичайною (*Esox lucius* L., 1758).

Експерименти на прісноводних рибах проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для польових та лабораторних експериментів (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Міністерство охорони здоров'я України, 2012) та рішення етичної комісії Тернопільського національного педагогічного університету (Протокол № 2/2020, від 3 серпня 2020 р.). Усі використані реактиви мали кваліфікацію «осч» або «хч».

## 2.2. Визначення вмісту металів у тканинах риб

Для визначення вмісту кобальту у тканинах зябер, печінки і білих м'язів риб зразки були спалені у концентрованій нітратній кислоті у співвідношенні

1 : 5 (об'єм : об'єм) в тefлонових герметичних колбах за температури 110-120° протягом двох годин. Вміст металу визначався на оптичному спектрометрі з індуктивно-зв'язаною плазмою «iCAP 6300 DUO» (США) та виражався в мг/кг вологої тканини.

## **2.3. Біохімічні методи дослідження**

### **2.3.1. Загальний вміст ліпідів**

Екстрагування загальних ліпідів проводилося методом Фолча (Folch et al., 1957). Для цього до однієї масової частини подрібненої на холоді в скляному гомогенізаторі тканини було додано 20 частин суміші хлороформ : метанол (2 : 1). Після 12 годин екстракції водорозчинні неліпідні компоненти видалялися шляхом промивання 1 %-им розчином КСІ. Загальний вміст ліпідів у пробах визначався гравіметричним (ваговим) методом після повного видалення екстрагуючої суміші розчинників та висушування залишку до постійної маси (Kates, 1972). Отримані результати були виражені в мг/г вологої тканини.

### **2.3.2. Неполлярні ліпіди**

Зразки екстрагованих ліпідів тканин риб (п. 2.3.1) було розчинено в 1 мл хлороформу. Фракціонування неполярних ліпідів проведено методом висхідної одномірної тонкошарової хроматографії на стандартних хроматографічних пластинах виробництва фірми «Merck» (Німеччина). Перед використанням хроматографічні пластини були активовані в сушильній шафі протягом 30 хвилин за температури 105 °С. Хлороформний розчин ліпідів у кількості 40 мкл мікродозатором наносився на активовану пластину. Розділення фракцій неполярних ліпідів проходило у хроматографічних камерах із використанням системи розчинників гексан : діетиловий етер : льодяна оцтова кислота (70 : 30 : 1). Візуалізація розділених ліпідних фракцій здійснювалася шляхом витримання хроматограм у герметичній камері, насиченій парами кристалічного йоду (Грициняк та ін., 2010). Ідентифікацію окремих фракцій ліпідів здійснювали шляхом зіставлення їхніх значень  $R_f$  із показниками відповідних стандартів

високого ступеня очищення та за допомогою специфічних кольорових реакцій (Kates, 1972). Зокрема кількісний аналіз окремих фракцій неполярних ліпідів здійснювали дихроматним методом (Amenta, 1964), тоді як кількість фосфоліпідів оцінювали за вмістом неорганічного фосфору (метод Васьковського) (Vaskovsky, 1985).

### ***2.3.3. Фосфоліпіди***

Екстраговані ліпіди (п. 2.3.1) було ресуспендовано в 1 мл трихлорметану. Поділ фосфоліпідів на окремі класи здійснювали методом висхідної одномірної ТШХ з використанням стандартних пластин виробництва «Merck» (Німеччина). Хроматографічні пластини було активовано в сушильній шафі (30 хв, 105°C). Хлороформний розчин ліпідів об'ємом 40 мкл нанесено на активовану пластину за допомогою мікродозатора. Хроматографічне розділення фосфоліпідів здійснювалося в герметичних скляних камерах у системі розчинників хлороформ : метанол : льодяна оцтова кислота : вода (60 : 30 : 7 : 3) (за об'ємом). Детекція розділених фосфоліпідних фракцій на пластинах здійснювалася шляхом їх експонування в парах кристалічного йоду в герметичній камері, до появи чітко забарвлених зон (Грициняк та ін., 2010). Ідентифікацію фракцій проводили за значеннями  $R_f$  відносно стандартів (Kates, 1972).

### ***2.3.4. Жирні кислоти***

Метиллові естери жирних кислот (FAME) були отримані із загальних ліпідів (п. 2.3.1) шляхом кислотно-каталізованої переетерифікації (Christie & Nap, 2012). Наважка екстрагованих ліпідів (100 мг) була розчинена у 1,5 мл дихлорметану із додаванням 3 мл метанольно-сульфатної суміші (200 : 3, об'єм : об'єм). Після інтенсивного перемішування реакційну суміш було витримано в термостаті (100°C, 60 хв) та охолоджено до кімнатної температури. Екстракція метилових естерів здійснювалася шляхом додавання до реакційної суміші 3 мл гексану та 1 мл дистильованої води. Після розшарування системи верхню (гексанову) фазу було кількісно відокремлено. Осушення екстракту здійснювалося безводним сульфатом натрію протягом 24

год. Після фільтрування розчинник було видалено шляхом випаровування у тоці азоту до постійної маси. Ліпідний залишок було розчинено у гептані (кінцева концентрація — 50 мг/дм<sup>3</sup>) для подальшого хроматографічного аналізу.

Аналіз FAME здійснювався на газовому хроматографі Agilent 6890 (Agilent Technologies, США), обладнаному полум'яно-іонізаційним детектором (FID) та капілярною колонкою з кварцового скла ВРХ70 (довжина — 50 м, внутрішній діаметр — 0,22 мм, товщина нерухомої фази — 0,25 мкм). Як газ-носії використовувався азот; коефіцієнт розподілу потоку становив 1:100.

Температурний режим інжектора та детектора підтримувався на рівні 270 °С та 300 °С відповідно. Обробка отриманих даних здійснювалася за допомогою програмного забезпечення STAR-GC3800. Ідентифікація окремих жирних кислот проводилася за часом їх утримування порівняно зі стандартами суміші 40 жирних кислот (NU-CHEK PREP, INC., США). Кількісний вміст кожної кислоти (%) визначався методом внутрішньої нормалізації як відношення площі відповідного піку до сумарної площі всіх піків на хроматограмі.

### ***2.3.5. Вміст протеїнів у гомогенатах***

Відібрані зразки тканин риб гомогенізували у 50 мМ калій-фосфатному буферному розчині (рН 7,4) (1 : 10, маса : об'єм) та центрифугували при 6000 g протягом 10 хв. В отриманих супернатантах було виміряно вміст протеїнів за методом Лоурі та співавторів (Lowry et al., 1951), який обраховували відповідно до попередньо побудованої калібрувальної кривої на основі стандартного розчину тваринного альбуміну. Отриманні дані щодо вмісту протеїнів у кожній пробі було використано для обрахунку наступних показників стану антиоксидантної системи: загальної антиоксидантної активності, активності каталази, глутатіон-S-трансферази та вмісту загального глутатіону.

### ***2.3.6. Загальна антиоксидантна активність***

Вимірювання загальної антиоксидантної активності у тканинах риб було здійснено спектрофотометрично за довжини хвилі 734 нм. Реакція була ініційована додаванням 50 мкл супернатанту до 3 мл реакційного розчину. Метод ґрунтується на здатності досліджуваних зразків нейтралізувати стабільний катіон-радикал 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолін-6-сульфонату), що супроводжується зниженням оптичної щільності реакційної суміші. (Katalinic et al., 2005). Для побудови калібрувального графіка застосовано серію стандартних розчинів тролоксу. Загальну антиоксидантну активність досліджуваних зразків тканин виражено у ммоль еквівалентів тролоксу / мг загального вмісту протеїну.

### ***2.3.6. Активність каталази***

Спектрофотометричне вимірювання активності каталази у печінці риб проводилося при 240 нм протягом 60 с. Реакцію було ініційовано шляхом внесення 50 мкл пероксиду водню (субстрат) до 50 мкл супернатанту у 2,9 мл 50 мМ натрій-фосфатного буферного розчину (рН 7,0) (Aebi et al., 1974). Активність ферменту було розраховувано з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції гідроген пероксиду ( $\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} * \text{cm}^{-1}$ ) та виражено у мкмоль / мг протеїну.

### ***2.3.7. Активність глутатіон-S-трансферази***

Визначення активності глутатіон-S-трансферази базувалося на спектрофотометричному вимірюванні інтенсивності реакції кон'югації глутатіону із 1-хлоро-2,4-динітробензолом (Nabig, 1974). Ферментативна реакція була запущена шляхом додавання до 40 мкл супернатанту 200 мкл суміші 1 мМ розчину глутатіону в мМ Тріс буферу (рН 7,4), 1 мМ розчину 1-хлоро-2,4-динітробензолу в етанолі та 100 мМ Тріс буферу (рН 7,4) у об'ємному співвідношенні 1 : 1 : 19. У результаті утворення та накопичення аддукту S-2,4-динітрофенілглутатіону збільшується інтенсивність світлопоглинання при довжині хвилі 340 нм. Кінетику реакції було

зафіксовано через 20 хв після початку. Активність ферменту було обраховувано за коефіцієнтом екстинції комплексу ( $\epsilon = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) і виражено в мкмоль / мг протеїну.

### **2.3.8. Вміст загального глутатіону**

Для кількісного визначення загального глутатіону у гомогенаті тканин було використано метод, який ґрунтується на здатності глутатіону окиснюватися реактивом Еллмана (5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою) до окисненої форми з утворенням 5-тіо-2-нітробензойної кислоти (Anderson, 1985). Перед початком визначення окиснену форму глутатіону було відновлено за допомогою глутатіонредуктази. Швидкість утворення 5-тіо-2-нітробензойної кислоти реєстрували спектрофотометрично при 412 нм з інтервалом 30 с протягом 2 хв. Для побудови калібрувального графіка готували стандартні розчини відновленого глутатіону. Вміст загального глутатіону було виражено у нмоль / мг протеїну.

### **2.3.9. Пероксидне окиснення ліпідів**

Інтенсивність ПОЛ було визначено у гомогенатах відібраних тканин риб шляхом спектрофотометричного вимірювання поглинання аддуктів 2-тіобарбітурової кислоти червонуватого відтінку при 532 нм згідно авторів (Ohkawa et al., 1979). ПОЛ було обраховано з використанням молярного коефіцієнту екстинції ( $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) та виражено у нмоль / г вологої тканини.

## **2.4. Статистичні методи обробки результатів дослідження**

Математичне опрацювання експериментальних даних здійснювали мовою програмування R з використанням програмного забезпечення RStudio (версія 2026.01.2 Build 417, RStudio PBC, 2026). Для оцінювання достовірності відмінностей між середніми значеннями контрольної та дослідних груп використовувався параметричні (t-критерій Стьюдента) і непараметричні (W-критерій Вілкоксона) статистичні методи аналізу. Вибір статистичного критерію здійснювали на основі результатів перевірки відповідності розподілу

даних закону нормальності за критерієм Шапіро-Вілка. Кореляційний аналіз отриманих результатів здійснювали із визначенням коефіцієнта Пірсона, що дало змогу оцінити спрямованість та силу зв'язків між параметрами. Результати вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

### **РОЗДІЛ III. НАКОПИЧЕННЯ І ПЕРЕРОЗПОДІЛ ІОНІВ КОБАЛЬТУ В ОРГАНІЗМІ КАРАСЯ ТА ЩУКИ**

Потрапляння важких металів в органи риб відбувається головним чином шляхом як пасивного (дифузія) та і активного (протеїни переносники) транспорту. Біологічна дія важких металів в організмі гідробіонтів визначається складною взаємодією між швидкістю поглинання, внутрішнім транспортом та метаболічною активністю різних тканин (Rajeshkumar & Li, 2018). Після потрапляння у кровотік іони металу розподіляються нерівномірно, демонструючи виражену спорідненість до органів з високими метаболічними потребами та детоксикаційними властивостями (Dinesh Kumar et al., 2025; Ekiz & Karabulut, 2026). На поглинання та подальше біоакмулювання іонів кобальту тканинами риб може впливати низка абіотичних показників (хімічний склад води, температура, видоутворення та градієнти концентрації металів) та біологічних особливостей (вік, трофічне положення, швидкість метаболізму, вміст ліпідів, шляхи детоксикації та екскреції) (Rajeshkumar & Li, 2018).

У прісноводних риб поглинання кобальту, що міститься у воді, відбувається переважно через зябровий епітелій, потрапляючи в системний кровообіг через кальцієві канали або специфічні транспортери металів (Zimmer et al., 2019). Зябра служать основним посередником між рибою та її водним середовищем, виконуючи функції дихання, осморегуляції та виділення. Завдяки своїй великій площі поверхні, тонким епітеліальним шарам та високій васкуляризації, даний орган є критичною точкою входу для поглинання металів (Kwong, 2024). Отже, кількісне визначення концентрації важких металів в клітинах зябер має особливе значення, так як воно дає цінну інформацію як про ступінь забруднення навколишнього середовища, так і про фізіологічне навантаження, яке відчуває організм риби.

За результатами проведеного дослідження встановлено, що показники вмісту кобальту в зябрах карася та щуки з контрольних груп майже однакові. За дії обох концентрацій металу виявлено тенденцію до його накопичення у

тканинах зябер риб, тоді як достовірні зміни – збільшення у 2,9 разів порівняно із контролем – зафіксовано у щуки за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Со<sup>2+</sup> (Рис. 3.1).

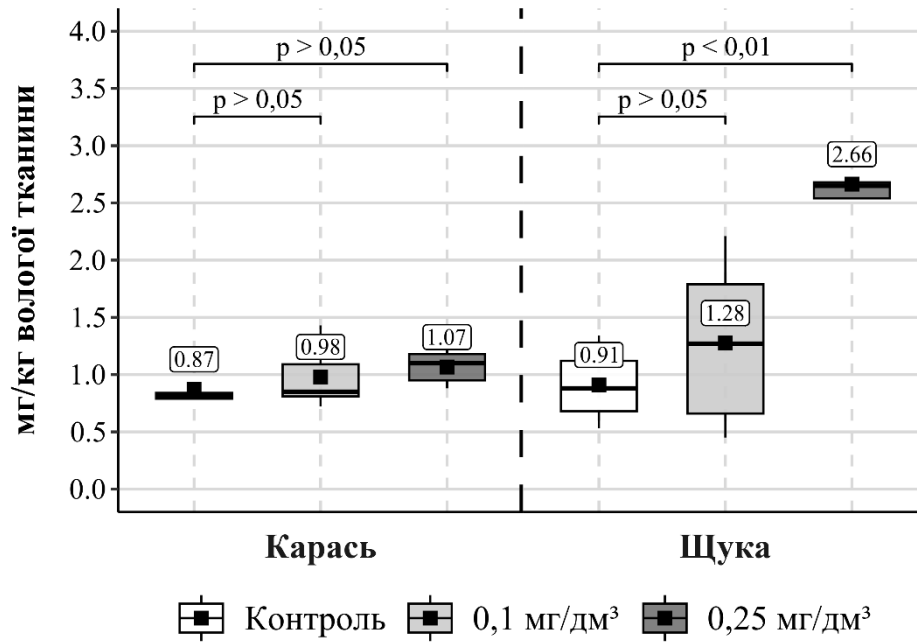


Рис. 3.1. Вміст кобальту у зябрах риб за різної його концентрації у воді (М ± m, n = 5).

У результаті аналізу виявлено вищий вміст кобальту в печінці карасів із контрольної групи, порівняно із хижими щуками.

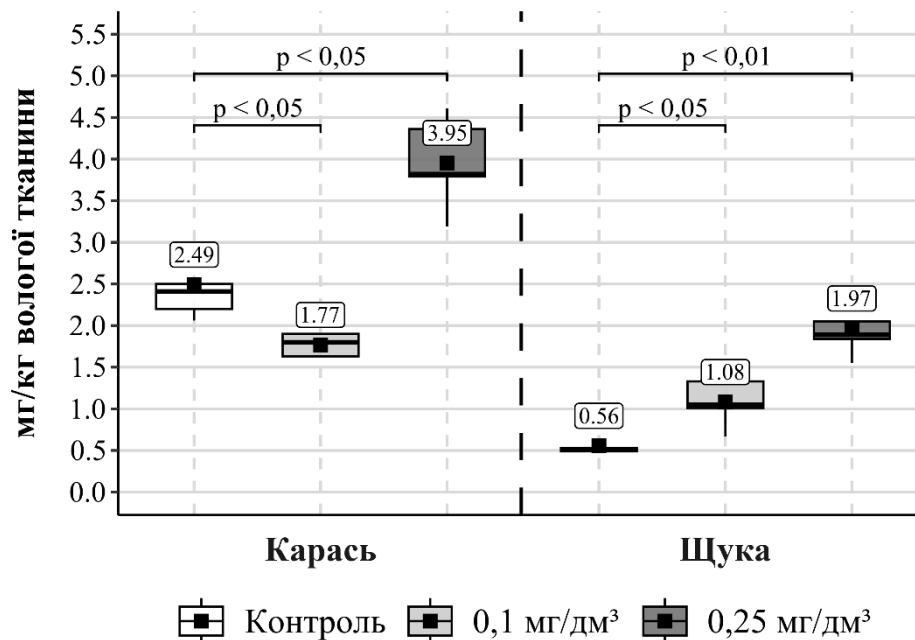


Рис. 3.2. Вміст кобальту у печінці риб за різної його концентрації у воді (М ± m, n = 5).

Печінка є ключовою ланкою у підтриманні гомеостазу есенціальних мікроелементів та детоксикації ксенобіотиків, що робить її основною мішенню для накопичення важких металів (Dinesh Kumar et al., 2025). За концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> кобальту у воді його вміст у печінці карася знижується на 29,0 %, тоді як за концентрації 0,25 мг/дм<sup>3</sup> – зростає на 58,6 % (Рис. 3.2). За дії обох концентрацій металу у воді виявлено підвищення його кількості у печінці щуки у 1,9 та 3,5 разів відповідно.

М'язова тканина, що становить майже 50% маси тіла, становить основну частину біомаси кісткових риб. Ця значна присутність робить її критично важливою ланкою у водному харчовому ланцюзі, слугуючи основним резервуаром для передачі поживних речовин та енергії між трофічними рівнями. Зазвичай короткотривалий вплив важких металів не призводить до значного їх накопичення у м'язах риб (Shalini et al., 2020).

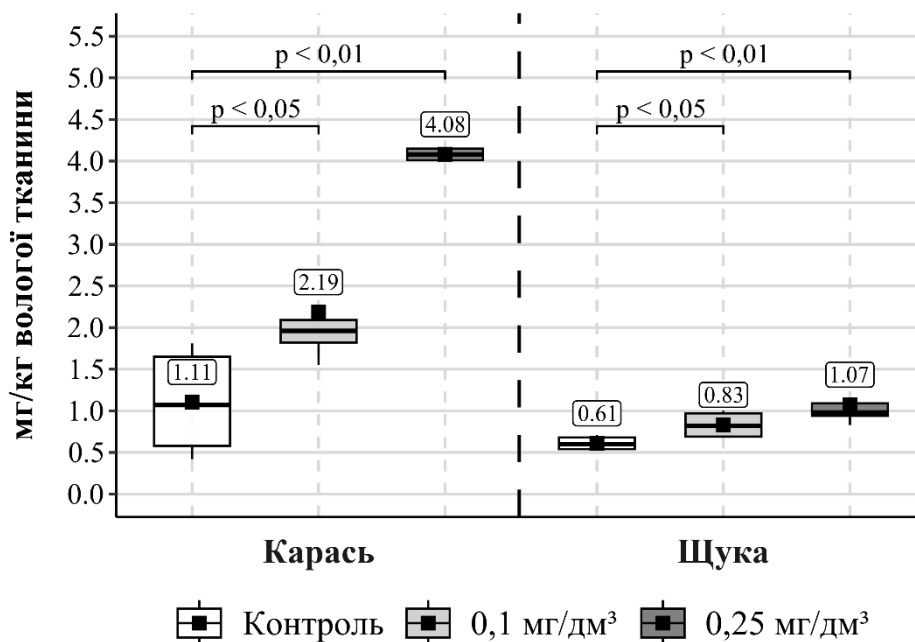


Рис. 3.3. Вміст кобальту у м'язах риб за різної його концентрації у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Проте аналіз отриманих даних показав, що протягом 14 діб за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> кобальту у воді його вміст у м'язах карася підвищився у 2 рази, тоді як за концентрації 0,25 мг/дм<sup>3</sup> – збільшився у 3,7 разів (Рис 3.3). У м'язах щуки

також зафіксовано концентраційно-залежне збільшення вмісту кобальту на 36,0 % та 75,4 % за впливу обох концентрацій досліджуваного металу.

### **Висновки до розділу III.**

Доведено, що акумуляція та перерозподіл іонів кобальту в організмі прісноводних риб являє собою складний, тканинспецифічний і дозозалежний процес. Його інтенсивність детермінується як фізико-хімічними умовами водойм, так і видоспецифічними фізіолого-біохімічними характеристиками гідробіонтів. Зябра, як орган первинного контакту організму риби з водним середовищем, загалом продемонстрували найнижчий рівень накопичення  $Co^{2+}$  за дії його підвищених концентрацій. Винятком стала лише щука, у зябрах якої зафіксовано значну акумуляцію цього металу за умов максимального токсичного навантаження (0,25 мг/дм<sup>3</sup>).

Реакція печінки на токсичний вплив металу має видоспецифічний характер, так як у карася спостерігається нелінійна відповідь (зниження вмісту кобальту за концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та зростання за 0,25 мг/дм<sup>3</sup>), тоді як печінка щуки демонструє виражене дозозалежне акумулювання токсиканту із максимальним зростанням його вмісту у 3,5 раза. Встановлено, що 14-добова експозиція є достатньою для суттєвого накопичення металу у м'язах риб. Найбільшу акумулюючу здатність виявлено у м'язах карася (зростання в 3,7 раза), що є підтвердженням значного потенціалу передачі іонів кобальту на вищі трофічні рівні через водні харчові ланцюги.

За результатами представленими в розділі III, опубліковані наступні роботи:

1. Марків, В. С., Хоменчук, В. О., & Курант, В. З. (2024). Накопичення кобальту в організмі прісноводних риб за його підвищеного вмісту у воді. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, (6), 78–82. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2023.06.078>

## **РОЗДІЛ IV. ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ТКАНИН ЗЯБЕР, ПЕЧІНКИ ТА М'ЯЗІВ РИБ ЗА ІНТОКСИКАЦІЇ ІОНАМИ КОБАЛЬТУ**

Водні організми, зокрема риби, володіють різноманітним та складним набором біохімічних адаптивних механізмів, які дозволяють їм успішно переносити та виживати за впливу токсичних речовин навколишнього середовища (Shahjahan et al., 2022). Катіони двовалентних важких металів здатні безпосередньо взаємодіяти з ліпідами клітинних мембран, індукуючи значні фізико-хімічні зміни, зокрема порушення плинності, агрегацію ліпідів, фазове розділення та підвищення мембранної проникності (Sule et al., 2023).

Ліпіди відіграють провідну роль у забезпеченні резистентності організму риб до змін умов водного середовища, виступаючи ключовими маркерами фізіологічного стану гідробіонтів (Dreier et al., 2020). Аналіз загального вмісту ліпідів та їх неполярних фракцій у різнофункціональних тканинах зябер, печінки та м'язів є важливим для розкриття тканинно- та видоспецифічних механізмів структурної перебудови клітинних мембран і мобілізації енергетичних ресурсів у відповідь на токсичний вплив іонів кобальту.

Як фундаментальні субстрати для високоактивних метаболічних сигнальних молекул у тварин, фосфоліпіди (ФЛ) та їх аналоги є важливими для фізіології та біохімії кісткових риб. Зокрема, вони модулюють критичні клітинні процеси, починаючи від регуляції цитоскелету та виживання клітин і закінчуючи підтримкою внутрішньоклітинних органел, включаючи апарат Гольджі, лізосоми та ендосоми (Tocher et al., 2008). Зміни кількісного складу ФЛ та співвідношення їх фракцій є важливими компенсаторними механізмами, які забезпечують стабільну каталітичну активність мембранозв'язаних ензимів та їх комплексів (Arambourou et al., 2020), а також регулюють механізми клітинної сигналізації, так як є важливими структурно-функціональними компонентами клітинних сигнальних шляхів і безпосередньо інтегровані в механізми ініціації та реалізації апоптозу (Sule et al., 2020).

Вплив важких металів часто може призводити до пошкодження молекул жирних кислот, що є фундаментальними складниками у забезпеченні структурно-функціональної цілісності біологічних мембран риб і мають велике значення для їхньої поживної цінності в раціоні людини (Das et al., 2018; Kovacik et al., 2025). Тканини м'язів риб демонструють високий ступінь ліпідомного різноманіття, що включає широкий та складний спектр насичених, мононенасичених та поліненасичених жирних кислот (Jovičić et al., 2024).

Трансформація жирнокислотного профілю тканин риб виступає не лише критерієм їхньої харчової цінності, а й слугує об'єктивним біомаркером токсичного навантаження на прісноводні екосистеми (Kovacik et al., 2025). Трансформація ліпідного метаболізму та жирнокислотного профілю слугує інструментом для з'ясування механізмів впливу металів на гідробіонтів у трофічних ланцюгах. Такі зміни розглядаються як інтегративна біохімічна відповідь на дію та акумуляцію поллютантів, що зумовлює їхню високу діагностичну цінність як перспективних біомаркерів антропогенного навантаження (Łuczyńska & Paszczyk, 2019). Більшість попередніх досліджень зосереджувалися виключно на накопиченні металів або на аналізі профілю жирних кислот в організмі риб (Jovičić et al 2024; Linhartová et al., 2018; Nędzarek et al., 2022; X. Zhang et al., 2020).

#### **4.1. Загальний вміст ліпідів**

За результатами дослідження встановлено виражену гетерогенність загального вмісту ліпідів у тканинах прісноводних риб у період їхньої активної життєдіяльності. Вектор зростання пулу ліпідів у досліджуваних органах формує таку послідовність: скелетні м'язи → зябра → печінка. В результаті аналізу отриманих результатів не було виявлено достовірних змін загального вмісту ліпідів у зябрах карася за дії іонів кобальту (Рис. 4.1). Тоді як у щуки цей показник знизився на 39,4 % за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів досліджуваного металу порівняно із контрольною групою риб.

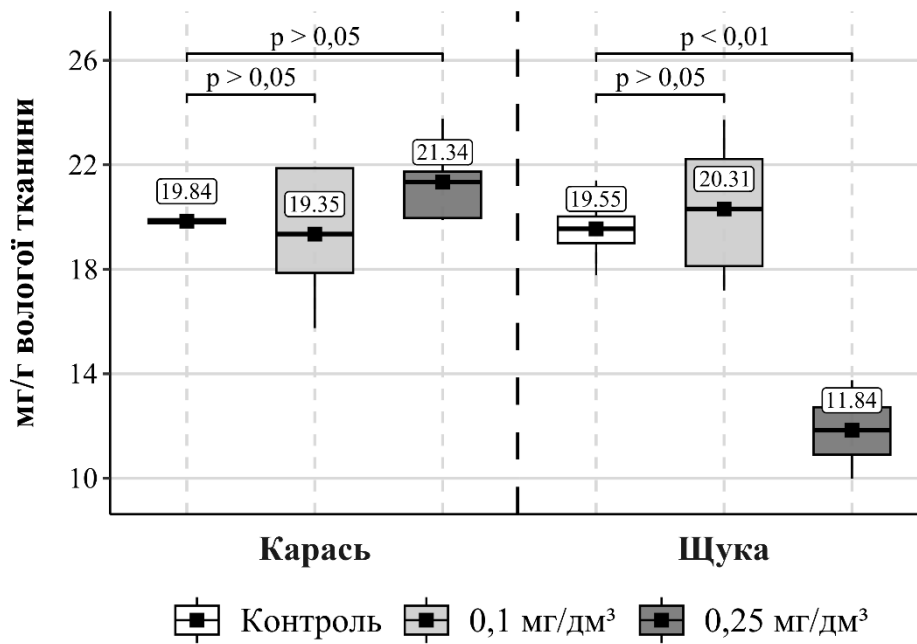


Рис. 4.1. Загальний вміст ліпідів у зябрах риб за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Печінка відіграє провідну роль у підтримці ліпідного гомеостазу гідробіонтів, виступаючи основним органом неоліпогенезу структурних компонентів клітинних мембран та базовою ланкою системи біотрансформації і детоксикації важких металів (Xie et al., 2026).

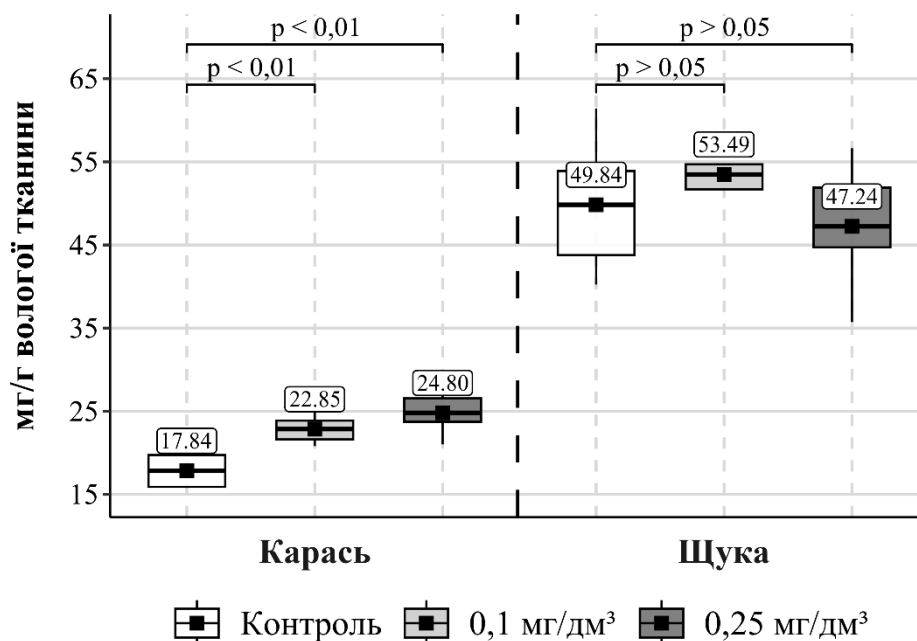


Рис. 4.2. Загальний вміст ліпідів у печінці риб за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У печінці карася зафіксовано дозозалежне підвищення загального вмісту ліпідів за концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів Co<sup>2+</sup> у воді на 28,1 % і 39,0 % відносно контрольних значень (Рис. 4.2). У тканині печінки щуки не виявлено суттєвих змін кількості ліпідів.

У м'язах риб виявлено тенденцію до зниження загального вмісту ліпідів на 14,2 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту в карася, а також на 36,6 % та 27,8 % за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів металу в карася і щуки відповідно (Рис. 4.3).

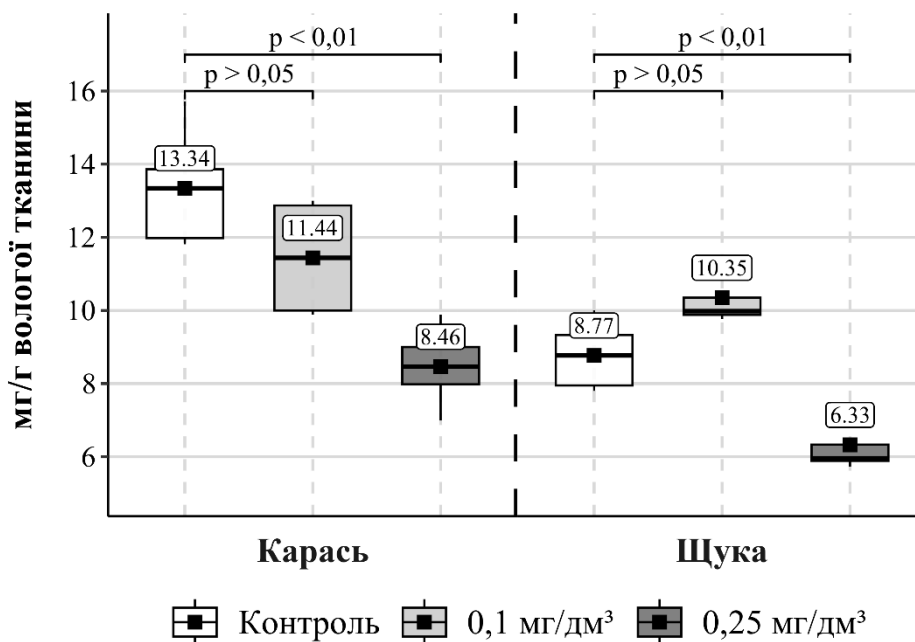


Рис. 4.3. Загальний вміст ліпідів у м'язах риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Зниження вмісту ліпідів може бути пов'язано з тим, що скелетні м'язи риб слугують потужним депо енергетичних ресурсів, мобілізація яких є життєво необхідною для забезпечення енергозатратних процесів детоксикації та адаптації до стресу (Dreier et al., 2020).

#### 4.2. Неполлярні ліпіди

Як основні посередники із водним середовищем, тканини зябер піддаються безпосередньому впливу розчинених іонів важких металів, що призводить до системних порушень ліпідного обміну в організмі риб (Zaghloul et al., 2024). Цей вплив зазвичай перешкоджає синтезу нових ліпідів, одночасно підвищуючи катаболізм. Таким чином, окремі класи ліпідів, такі як

ТАГ і ХЛ, можуть активно мобілізуватися для підтримки підвищених енергетичних потреб детоксикації та для сприяння відновленню клітинних мембран, порушених оксидативним стресом (Melvin et al., 2019).

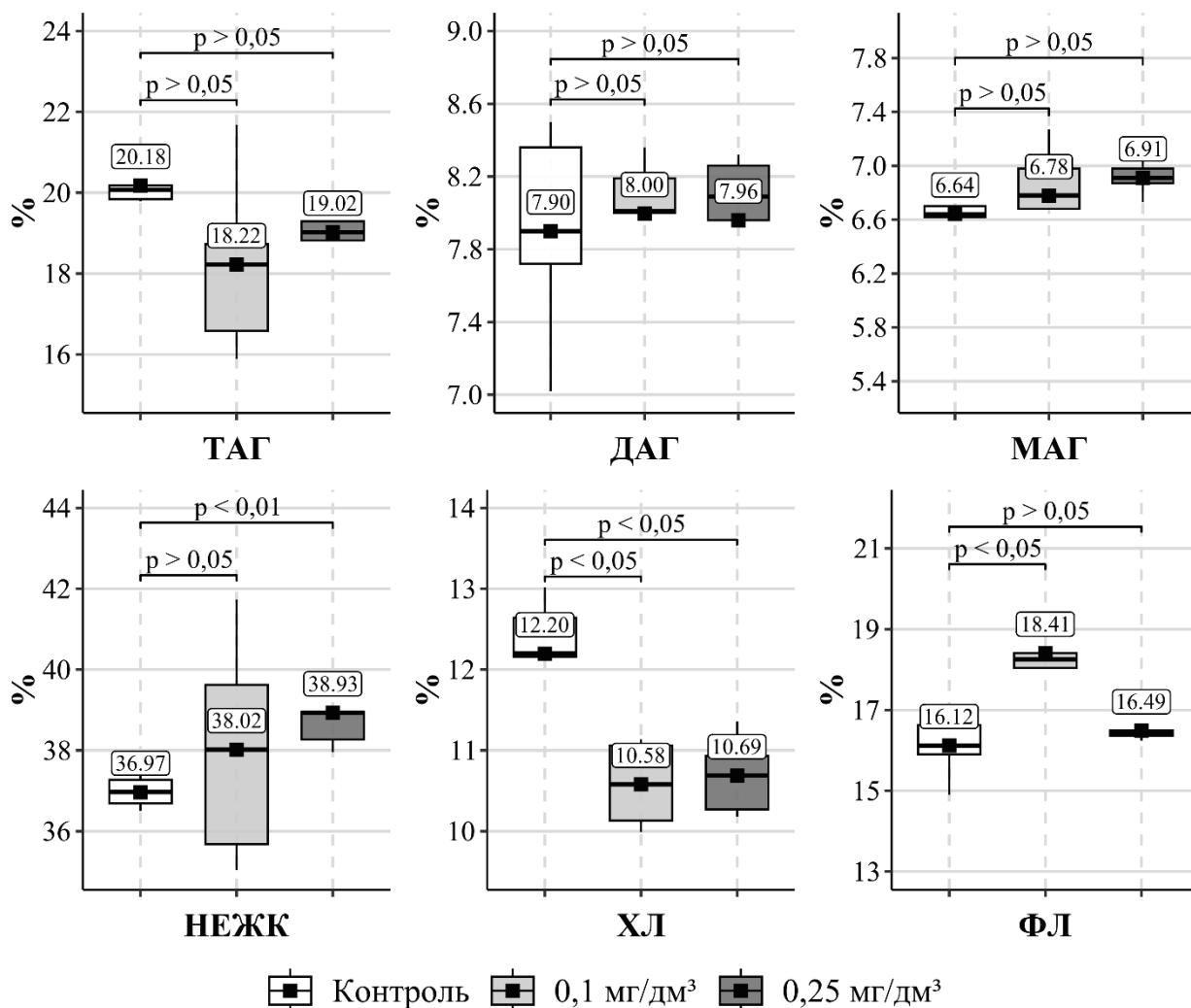


Рис. 4.4. Фракційний склад неполярних ліпідів зябер карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Аналіз фракційного складу неполярних ліпідів у зябрах карася (Рис. 4.4) показав підвищення частки ФЛ на 19,6 % і 27,3 % та зниження вмісту ХЛ на 13,2 % і 12,4 % за дії обох концентрацій кобальту. Такі ж зміни виявлено у тканині зябер щуки (Рис. 4.5), зокрема вміст ФЛ збільшився на 14,2 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів досліджуваного металу, тоді як частка ХЛ зменшилась на 13,2 % і 12,4 % за впливу 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup>  $Co^{2+}$  відповідно. За максимальної концентрації кобальту у зябрах щуки знизився рівень МАГ на 31,6 % і ТАГ на 22,8 %, тоді як вміст фракції ДАГ збільшився на 23,4 % відносно контрольних

значень. У обох видів риб за дії  $0,25 \text{ мг/дм}^3$  досліджуваного металу зафіксовано невелике зростання концентрації НЕЖК, зокрема на 5,3 % - у карася та на 6,9 % - у щуки.

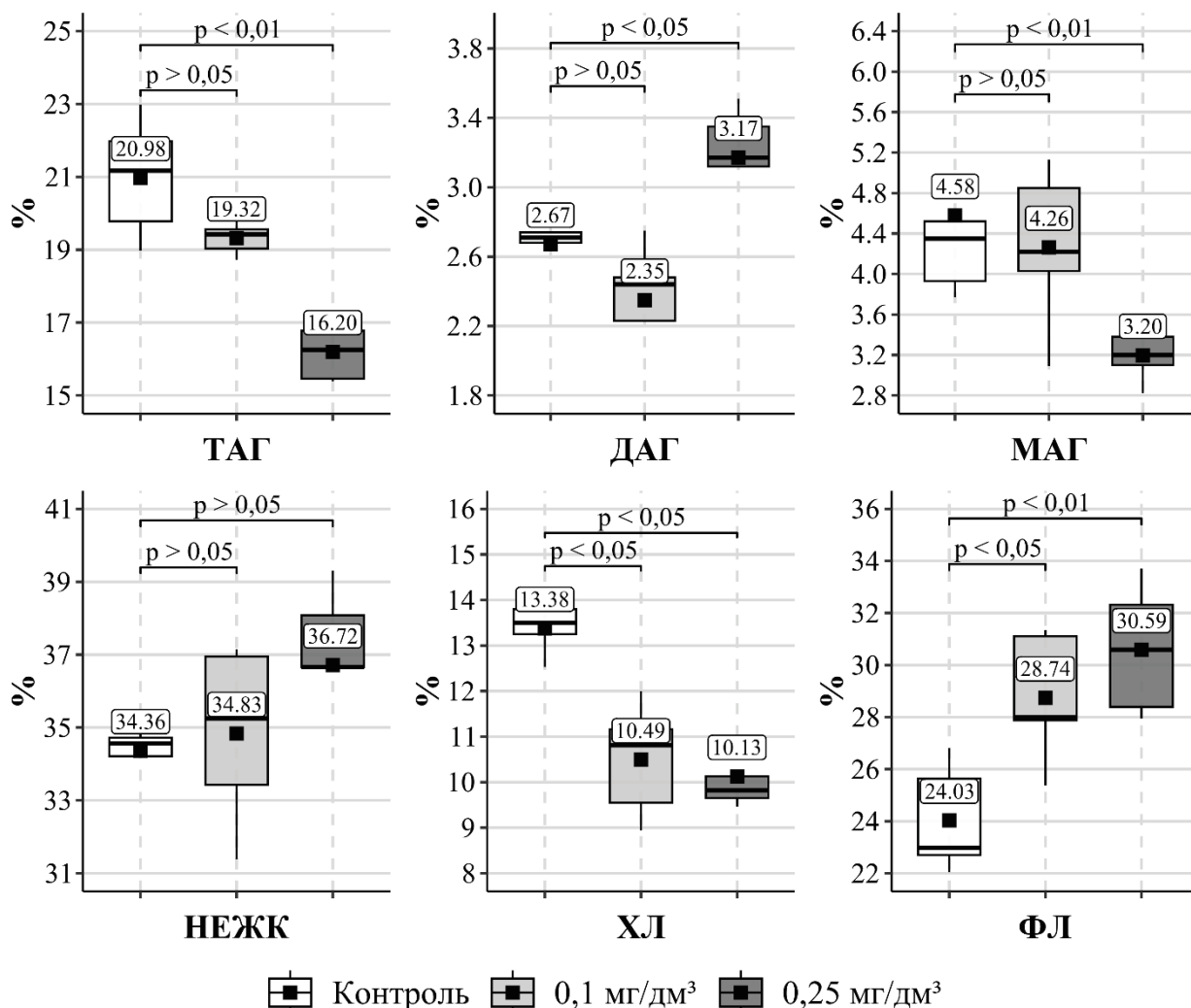


Рис. 4.5. Фракційний склад неполярних ліпідів зябер щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Аналіз фракційного складу неполярних ліпідів печінки має ключове значення для об'єктивної оцінки енергетичного потенціалу організму гідробіонтів та виявлення метаболічних перебудов, спрямованих на підтримку гомеостазу в умовах антропогенного навантаження (Грициняк та ін., 2010; Firat & Kargin, 2009). Досліджені зміни у печінці риб мають як схожі, так і відмінні особливості в залежності від їх виду (Рис. 4.6, 4.7). Зокрема у щуки було відмічено зростання вмісту МАГ на 39,0 % і 91,7 % за впливу обох

концентрацій металу у воді та зниження частки ТАГ на 25,2 % за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів Co<sup>2+</sup>.

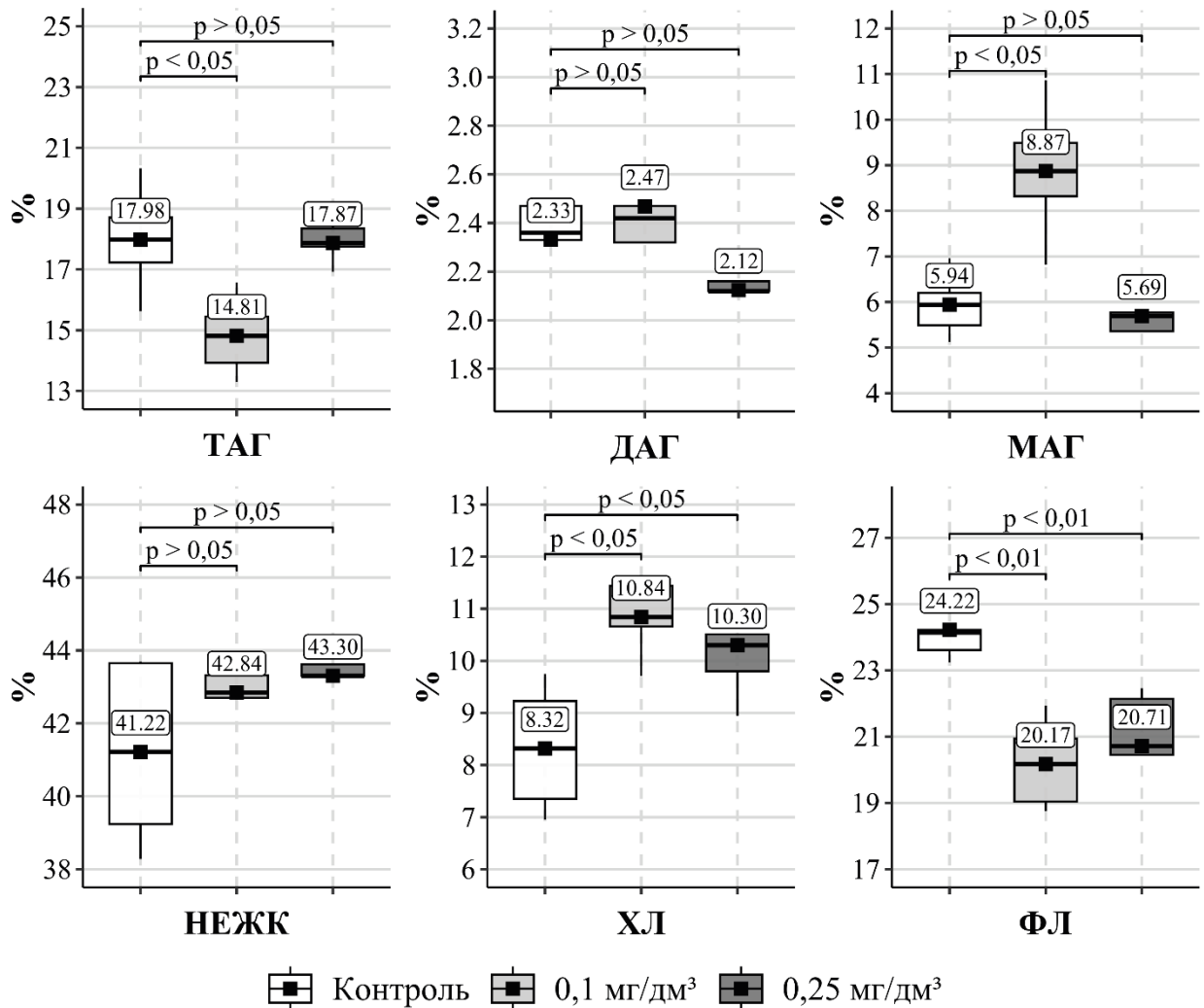


Рис. 4.6. Фракційний склад неполярних ліпідів печінки карася за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

У печінці карася аналогічні за спрямованістю зміни (зростання вмісту МАГ на 49,3 % та зниження кількості ТАГ на 17,6 %) були зафіксовані за концетрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у воді. У гепатоцитах як карася, так і щуки за дії максимальної концентрації досліджуваного металу у воді зафіксовано підвищення вмісту НЕЖК на 5,1 % та 15,5 % відповідно. Зміни співвідношення ХЛ до інших фракцій неполярних ліпідів мають відмінний видоспецифічний характер. Так, у печінці карася цей показник збільшувався на 30,3 % та 23,8 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у воді, тоді

як у гепатоцитах щуки виявлено зменшення вмісту ХЛ на 23,6 % за впливу максимальної концентрації досліджуваного металу.

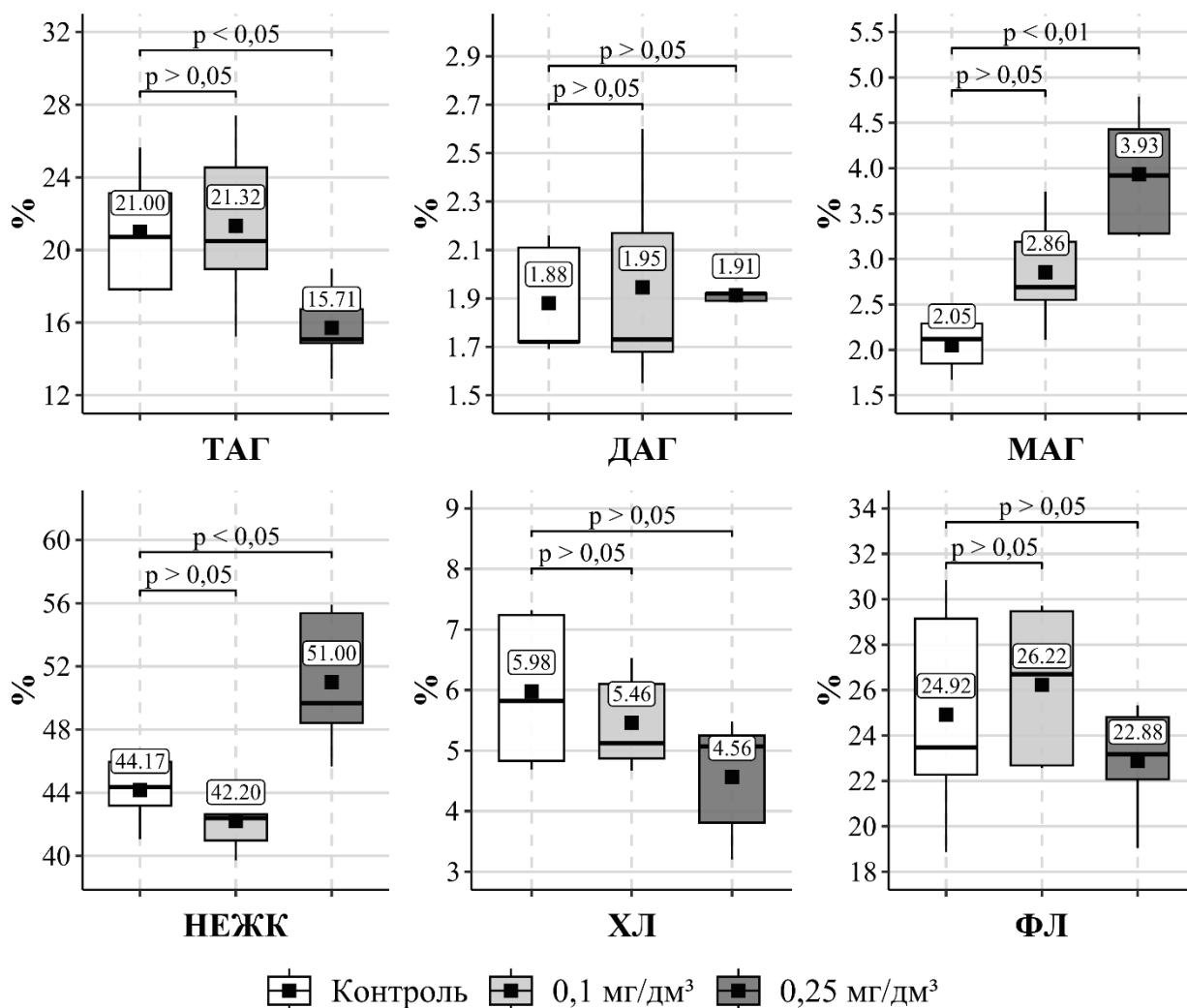


Рис. 4.7. Фракційний склад неполярних ліпідів печінки щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Оскільки риба є цінним джерелом їжі, дослідження змін ліпідного профілю м'язової тканини риб, які виникають внаслідок токсичного впливу важких металів, має важливе практичне значення для об'єктивної оцінки якості харчової продукції (Jovičić et al., 2024). Згідно аналізу отриманих даних виявлено, що вплив досліджуваних концентрацій іонів кобальту викликає помітні зміни у фракційному розподілі неполярних ліпідів у м'язах карася і щуки (Рис. 4.8, 4.9). Зокрема у карася зафіксовано зниження вмісту ТАГ на 8,6 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів  $\text{Co}^{2+}$  та частки МАГ на 20,1 % за впливу максимальної концентрації металу у воді.

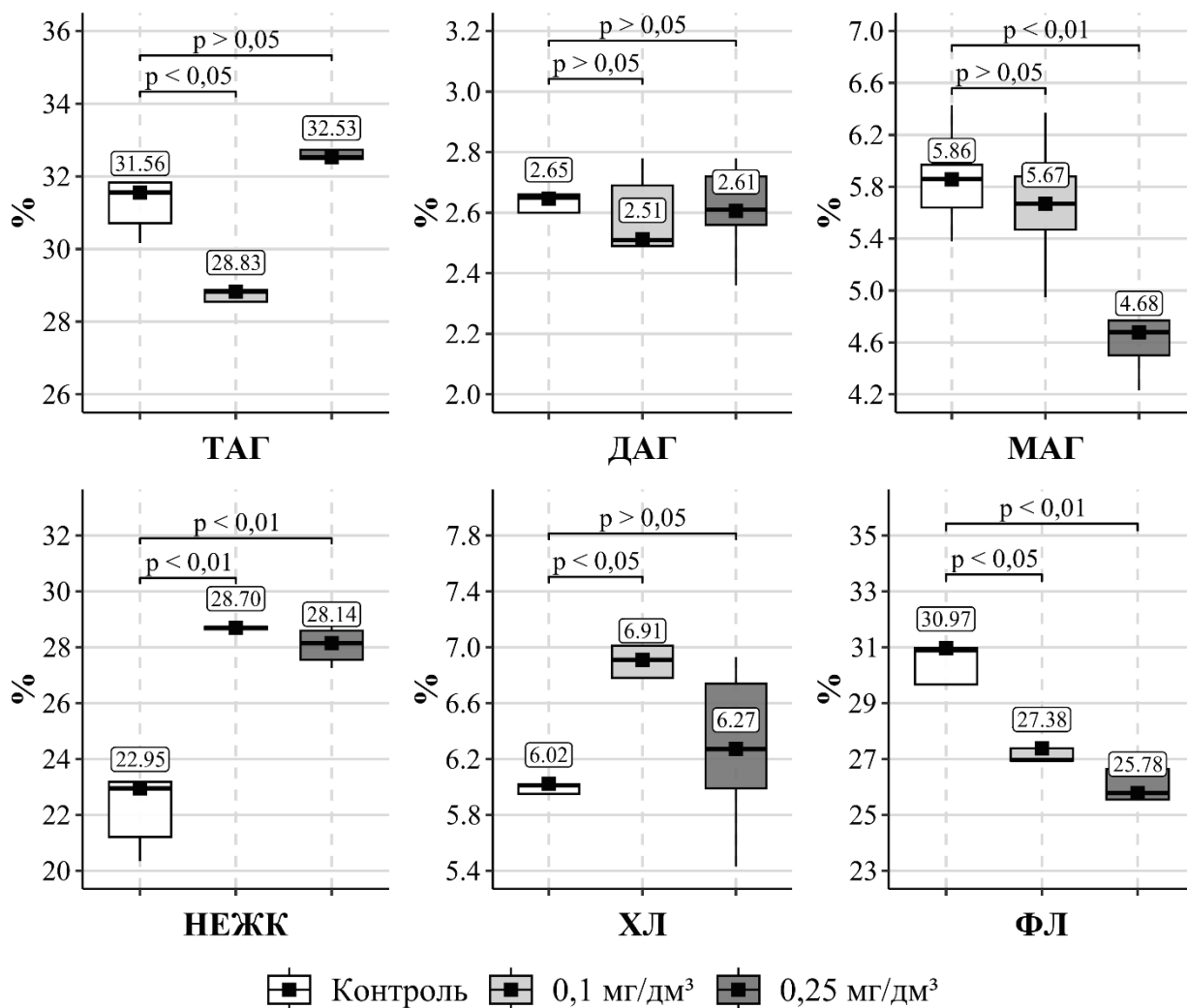


Рис. 4.8. Фракційний склад неполярних ліпідів м'язів карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У м'язах щуки зниження кількостей ТАГ на 15,3 % і 9,1 % і ДАГ на 43,6 % та 35,3 % виявлено за дії обох досліджуваних концентрації кобальту. У той час в обох видів риб спостерігалося збільшення кількості НЕЖК на 25,1 % і 22,6 % за дії 0,1 мг/дм³ та 0,25 мг/дм³ іонів  $\text{Co}^{2+}$  у м'язовій тканині карася і на 8,3 % за впливу 0,25 мг/дм³ досліджуваного металу у щуки. Зміни окремих фракцій неполярних ліпідів відзначалася вираженою видоспецифічністю. Вміст ХЛ достовірно збільшився у м'язах карася за дії 0,1 мг/дм³ іонів кобальту на 14,7 %, тоді як у щуки за впливу обох концентрацій металу у воді цей показник зменшився на 33,8 % та 33,4 % відносно значень контрольної групи відповідно.

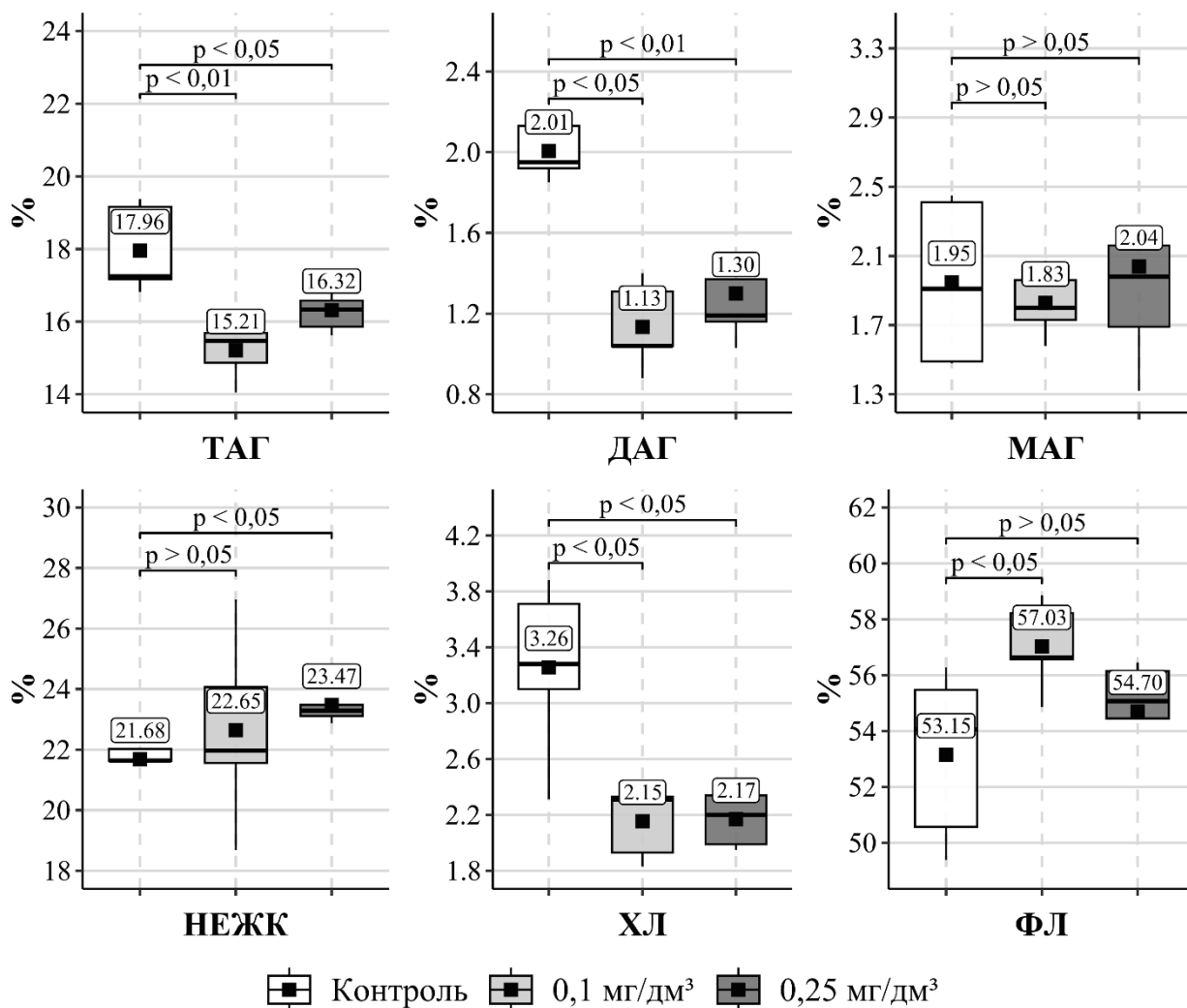


Рис. 4.9. Фракційний склад неполярних ліпідів м'язів щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Із збільшенням концентрації іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді зафіксовано тенденцію до зменшення при 0,1 мг/дм³ металу, та достовірно зменшення частки ФЛ на 16,8 % за дії 0,25 мг/дм³ іонів кобальту у м'язовій тканині карася. Зміни цього показника у м'язах щуки не були суттєвими і лиш вказували на тенденцію до збільшення за дії 0,1 мг/дм³ досліджуваного металу у воді.

### 4.3. Фосфоліпіди

Вплив несприятливих екологічних чинників, зокрема важких металів, зумовлює структурно-функціональні перебудови клітинних мембран, першочергово змінюючи їхню текучість (Sule et al., 2023). Розвиток токсичного стресу супроводжується пошкодженням ліпідного матриксу, що

порушує бар'єрні властивості біомембран, змінює їхню іонну проникність та дестабілізує роботу мембранозв'язаних транспортних білків (Yin et al., 2011).

У зябрах обох видів риб зафіксовано збільшення частки ФХ за дії обох підвищених концентрацій кобальту, зокрема на 15,4 % і 10,6 % у карася та на 4,5 % і 9,6 % у щуки (Рис. 4.10, 4.11). У той час вміст інших досліджуваних фракцій фосфоліпідів здебільшого знижувався. У зябрах карася за впливу обох концентрацій  $Co^{2+}$  виявлено тенденцію до зменшення частки ФЕА та достовірне зменшення кількості СФМ на 23,3 % і 12,6 %.

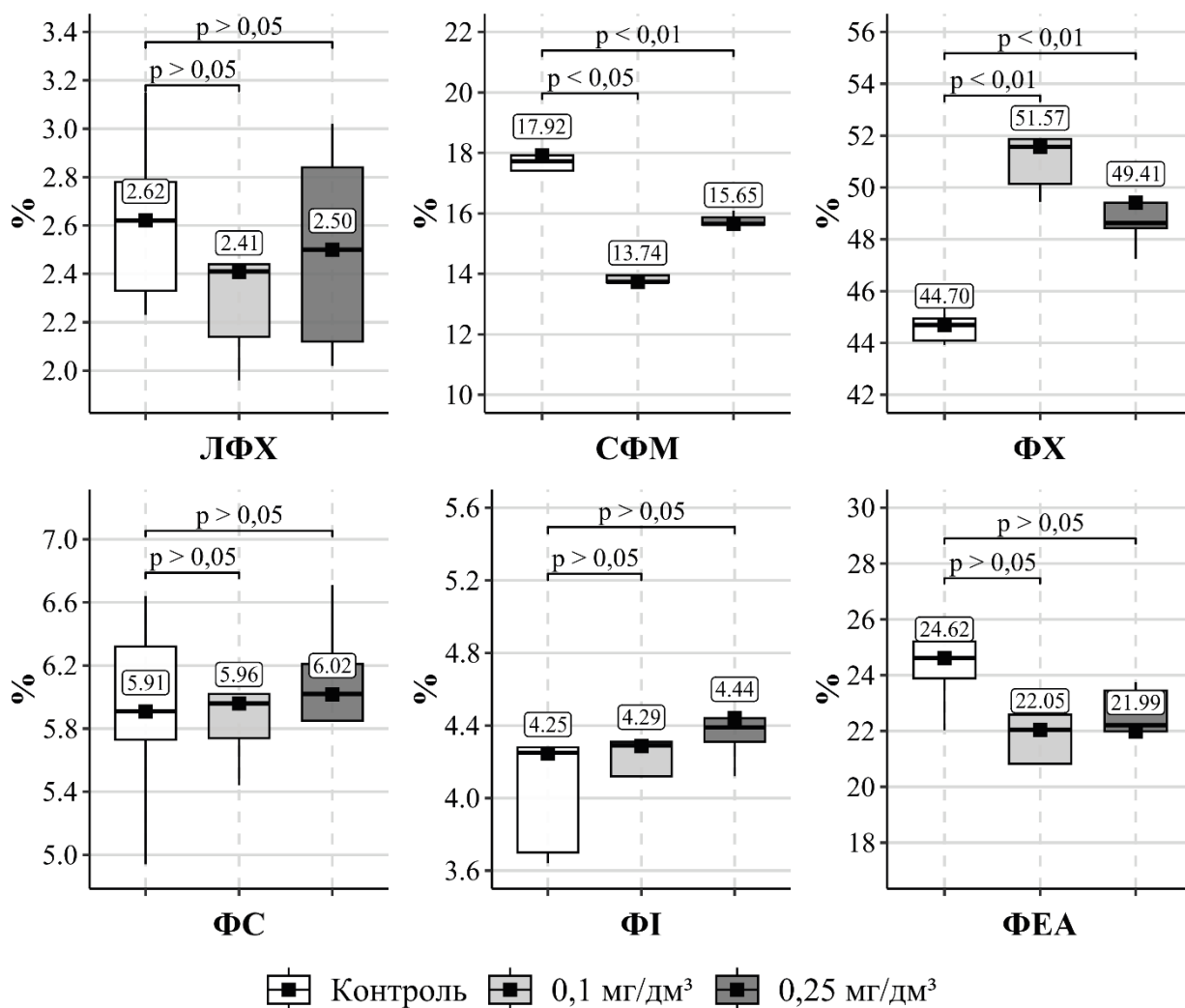


Рис. 4.10. Фракційний склад фосфоліпідів зябер карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У тканині зябер щуки спостерігалось зниження вмісту ФЕА на 12,1 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту, кількості ЛФХ на 18,6 % і СФМ на 9,4 % за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup>  $Co^{2+}$ , частки ФС на 27,8 % і 53,0 % за обох концентрацій

досліджуваного металу. Зміна вмісту фракції ФІ у зябрах щуки залежала від дози внесеного у воду металу, зокрема за концентрації  $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$  зафіксовано збільшення цього ФЛ на 22,9 %, а за дії  $0,25 \text{ мг/дм}^3$  іонів металу – його зниження на 11,0 % порівняно із показниками контрольних груп риб.

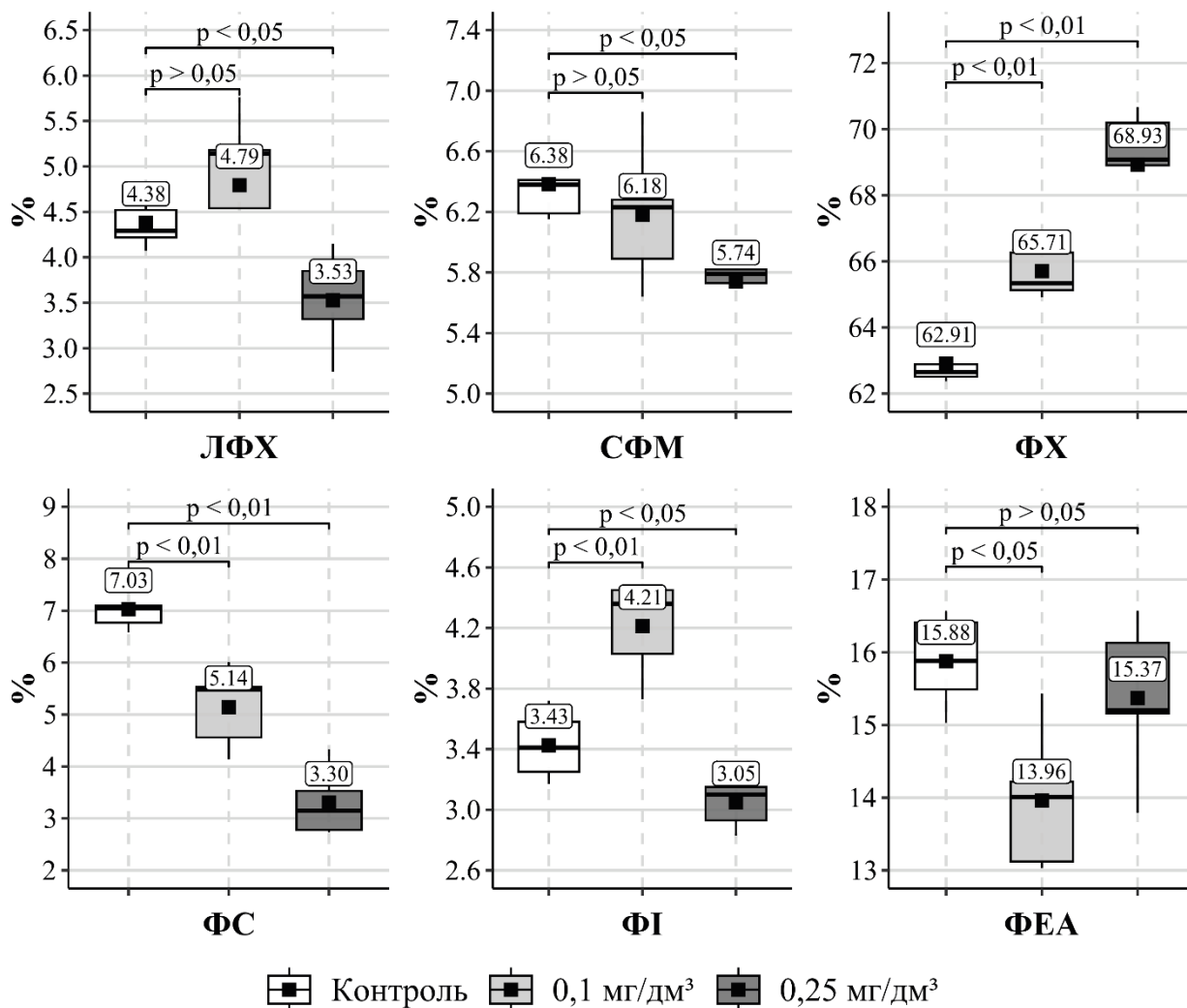


Рис. 4.11. Фракційний склад фосфоліпідів зябер щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m, n = 5$ ).

Зміни співвідношення фракцій фосфоліпідів у печінці досліджуваних видів риб за впливу іонів кобальту характеризувалася вираженою видовою специфічністю та різною інтенсивністю змін (Рис. 4.12, 4.13). Зокрема у згаданій вище тканині карася зафіксовано підвищення частки ЛФХ на 36,5 % за концентрації  $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$  у воді та зниження вмісту СФМ на 20,0 % і 22,1 % за впливу обох концентрацій досліджуваного металу. Тодія як у печінці щуки навпаки частка СФМ збільшувалася на 24,0 % і 26,6 % за дії  $0,1 \text{ мг/дм}^3$  і

0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту відповідно. Вміст ФХ у гепатоцитах хижої риби зменшувався із збільшенням концентрації  $\text{Co}^{2+}$  у воді, зокрема за 0,1 мг/дм<sup>3</sup> виявлено лише тенденцію до зміни цього показника, а за впливу максимальної кількості металу частка згаданого ФЛ знизилася на 16,4 %.

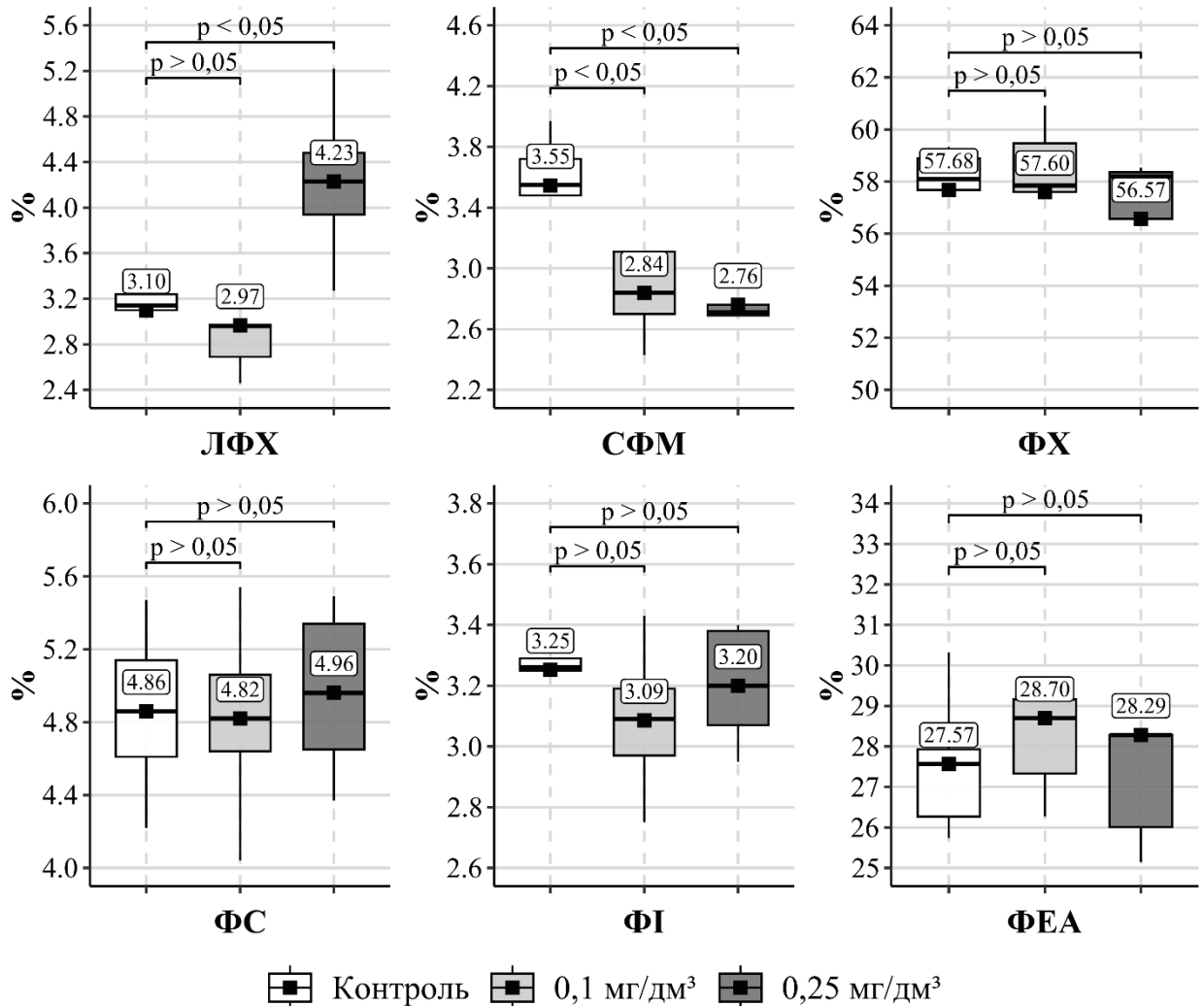


Рис. 4.12. Фракційний склад фосфоліпідів печінки карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Вплив іонів  $\text{Co}^{2+}$  на тканини печінки щуки у концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> викликав компенсаторне підвищення рівня ФС на 23,9 %, що корелює зі зниженням ФЕА, відомого медіатора фосфоліпідів, які містять холін (Хоменчук та ін., 2020). Біосинтез ФС безпосередньо в ліпідному бішарі здійснюється переважно за рахунок реакцій базового обміну, під час яких вільна амінокислота серин ферментативно заміщує залишок етаноламіну в молекулах ФЕА або холіну в структурі ФХ (Tocher et al., 2008). Однак вищі

концентрації досліджуваного металу призводили до зниження частки ФС на 31,3 % та підвищення вмісту ФЕА 31,6 % порівняно з контрольною групою. Крім того, за впливу іонів кобальту в концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> у тканині печінки щуки також було зафіксовано вірогідне зростання вмісту ФІ на 21,3 % відносно контрольних значень.

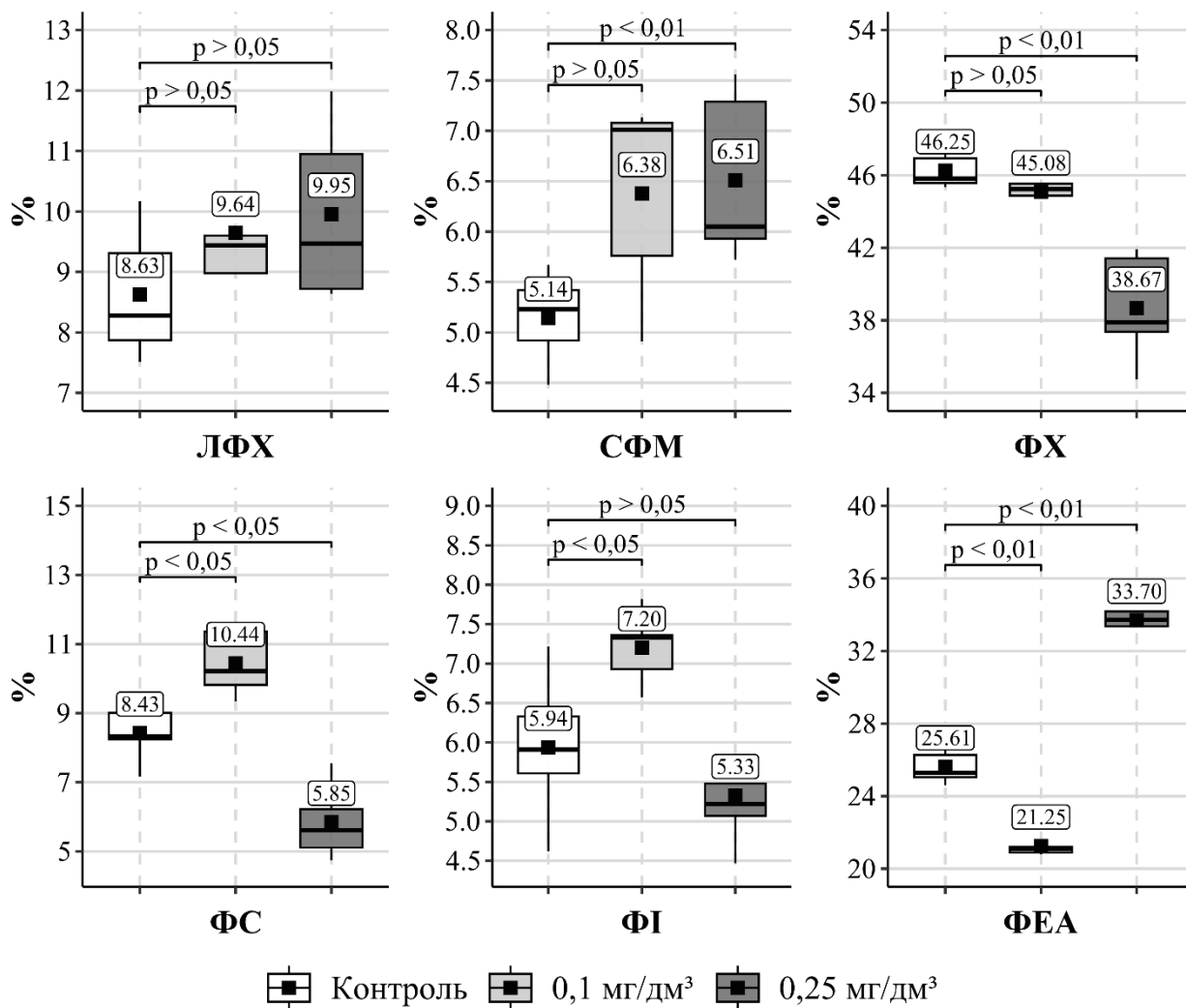


Рис. 4.13. Фракційний склад фосфоліпідів печінки щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Як і у печінці, так і у м'язах карася зафіксовано значно меншу кількість статистично значущих відхилень досліджуваних показників порівняно зі щукою (Рис. 4.14, 4.15). Деякі зміни у м'язовій тканині бентофага було виявлено за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup>  $\text{Co}^{2+}$  у воді, зокрема зниження рівня ФХ на 5,2 % та тенденцію до підвищення частки ЛФХ і ФЕА.

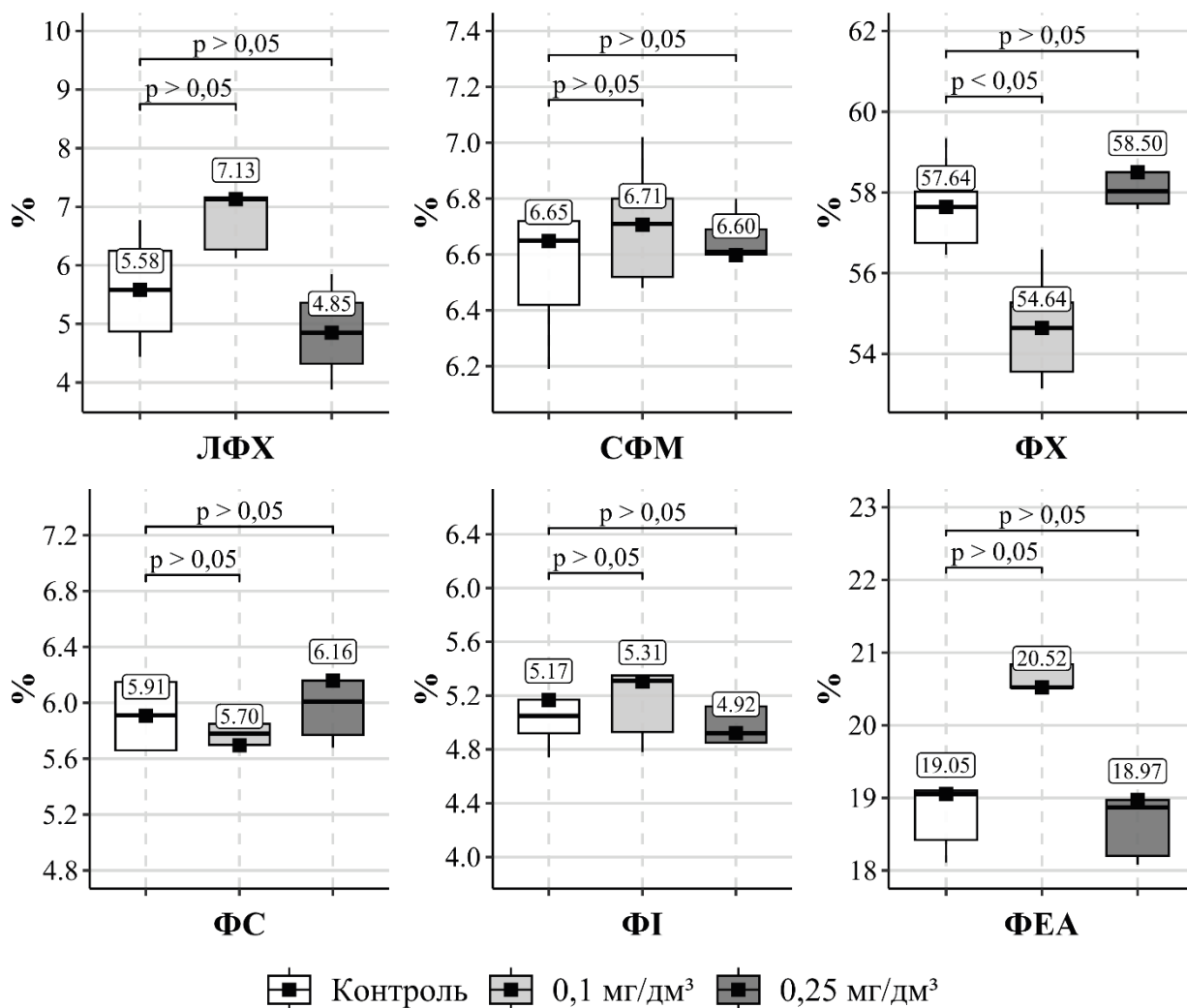


Рис. 4.14. Фракційний склад фосфоліпідів м'язів карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Разом з тим у м'язах щуки за впливу обох концентрацій  $\text{Co}^{2+}$  зафіксовано підвищення часток ЛФХ на 30,2 % і 58,2 %, СФМ на 28,2 % і 46,4 %, а також зниження кількостей ФІ на 13,2 % і 9,4 %, ФЕА на 15,9 % і 20,0 % відносно контролю. Окрім того за максимальної концентрації досліджуваного металу у воді спостерігалось зменшення вмісту ФХ на 9,9 % та збільшення частки ФС на 66,5 %. Дефіцит основних структурних фосфоліпідів (ФХ і ФЕА) у мембранному матриці ініціює каскад клітинних дисфункцій, зокрема порушення ультраструктурної організації та блокування систем активного транспорту іонів. Цей комплекс змін закономірно може призводити до підвищення проникності біомембран та розладу їхніх транспортних

механізмів, що виступає фундаментальною ознакою клітинної деструкції (Suleimanova et al., 2017).

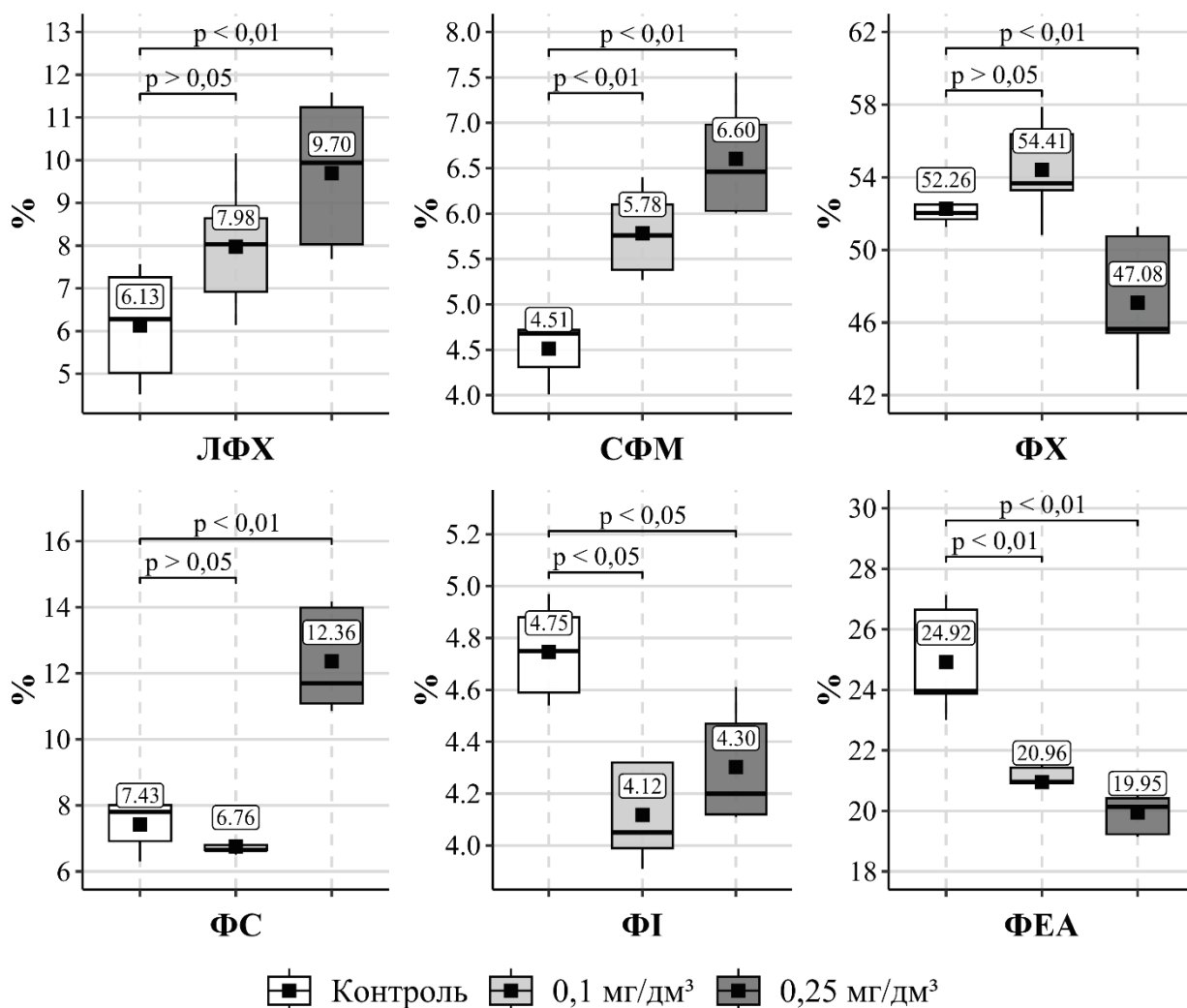


Рис. 4.15. Фракційний склад фосфоліпідів м'язів щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Отже, іони кобальту викликають різнонаправлені зміни у співвідношенні ФЛ тканин, що насамперед залежить від виду риб та визначається спорідненістю тканинних структур до металу.

#### 4.4. Зміни жирнокислотного складу м'язів риб за дії іонів кобальту

Наявність високих концентрацій важких металів у водному середовищі, може суттєво впливати на жирнокислотний профіль у тканинах риб через зміни відносної кількості окремих ЖК (Duarte et al., 2018; Silva et al., 2017; Strandberg et al., 2016). У результаті експериментальних досліджень ліпідного профілю м'язів карася та щуки за впливу іонів  $\text{Co}^{2+}$  встановлено наявність 13

жирних кислот, які за ступенем насиченості розподілилися наступним чином: п'ять НЖК, три МНЖК та п'ять ПНЖК.

У м'язах карася за впливу обох концентрацій іонів кобальту серед фракцій НЖК виявили статистично значуще підвищення частки міристинової кислоти (14:0) на 35,6 % і 33,1 % та зниження вмісту стеаринової кислоти (18:0) на 34,9 % і 33,3 % відносно контрольних значень (Рис. 4.16). Іони важких металів, таких як кобальт, можуть виступати модуляторами ферментативної ланки ліпідного обміну. Зокрема, було встановлено, що вплив  $Co^{2+}$  змінює активність десатураз та елонгаз у риб (Chetoui et al., 2025; Fadhlouai & Couture, 2016).

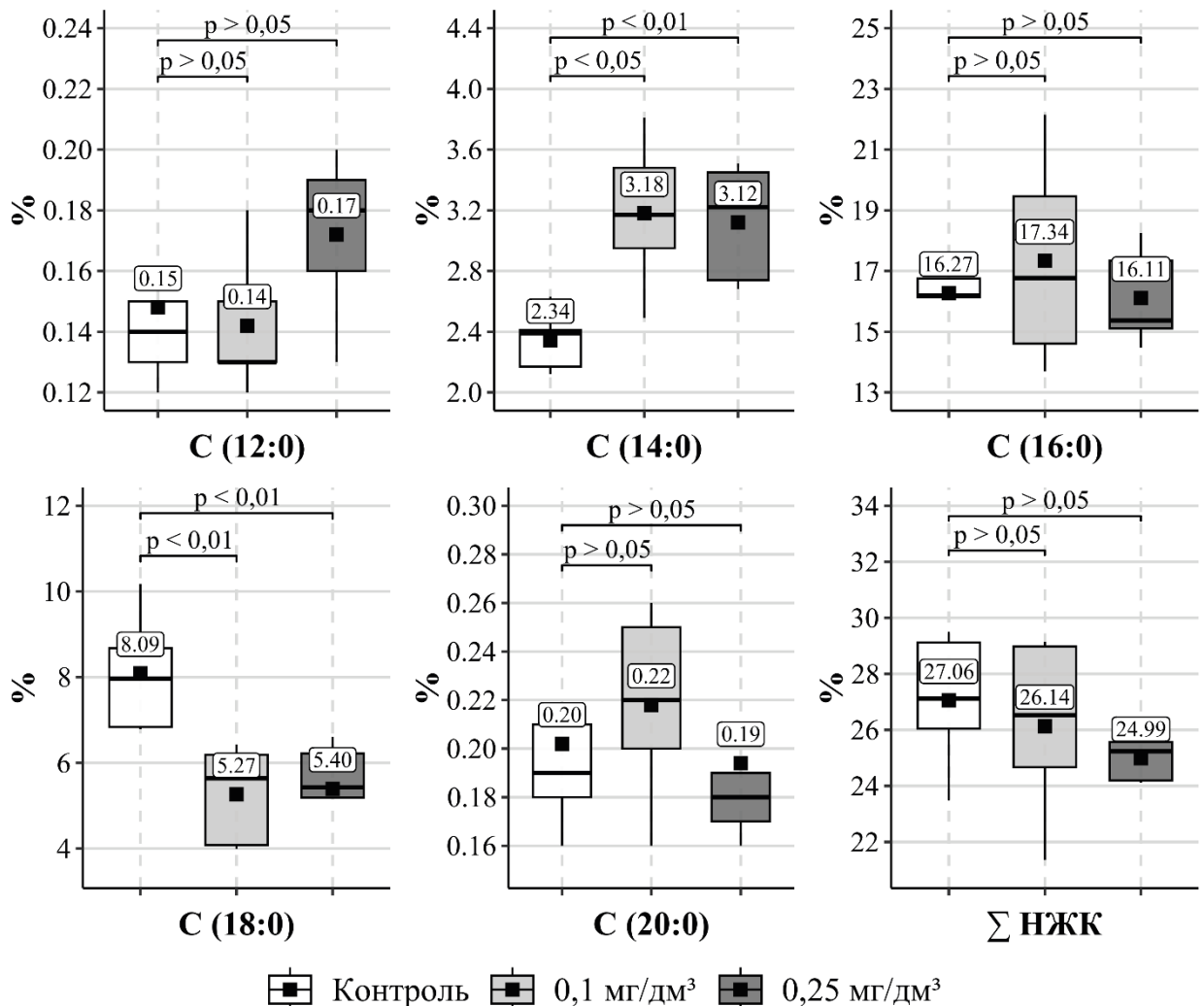


Рис. 4.16. Вміст насичених жирних кислот у м'язах карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Аналіз НЖК у м'язах щуки виявив вірогідне зниження рівня лауринової кислоти (12:0) на 14,2 % та арахінової кислоти (20:0) на 25,4 % за впливу 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту, тоді як за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup> знизились частки усіх насичених жирних кислот: лауринової (12:0) на 21,3 %, міристинової (14:0) – 10,4 %, пальмітинової (16:0) – 5 %, стеаринової (18:0) – 4,2 %, арахінової (20:0) – 20,8 % (Рис. 4.17).

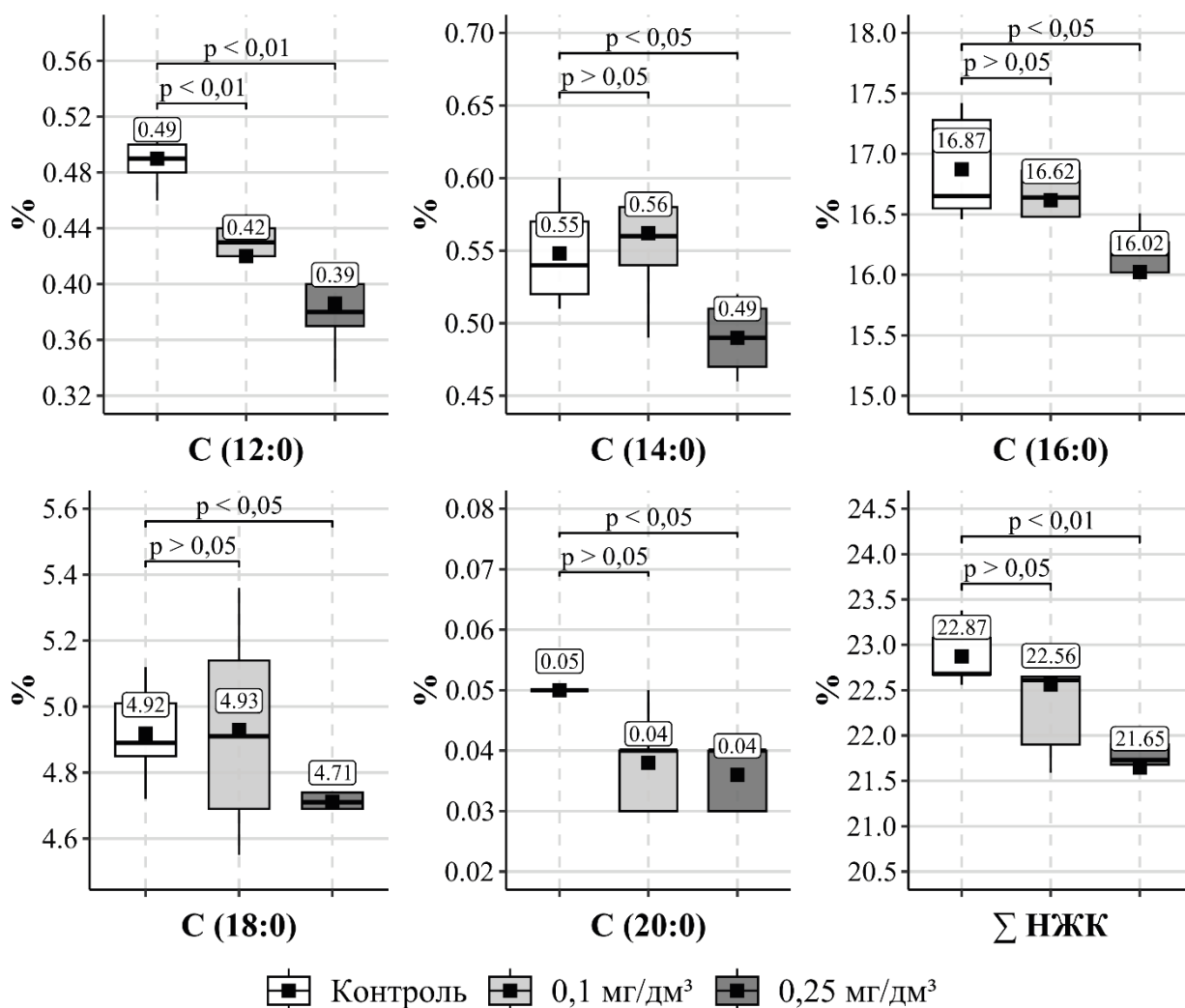


Рис. 4.17. Вміст насичених жирних кислот у м'язах щуки за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Аналіз профілю мононенасичених жирних кислот виявив різноспрямовані зміни за умов інтоксикації іонами кобальту. Зокрема, експозиція риб у середовищі з концентрацією Co<sup>2+</sup> 0,25 мг/дм<sup>3</sup> призвела до зменшення часток основних МНЖК: у м'язовій тканині карася рівень

олеїнової кислоти (18:1) знизився на 20,1 %, тоді як у щуки вміст пальмітолеїнової кислоти (16:1) зменшився на 9,1 % (Рис. 4.18, 4.19).

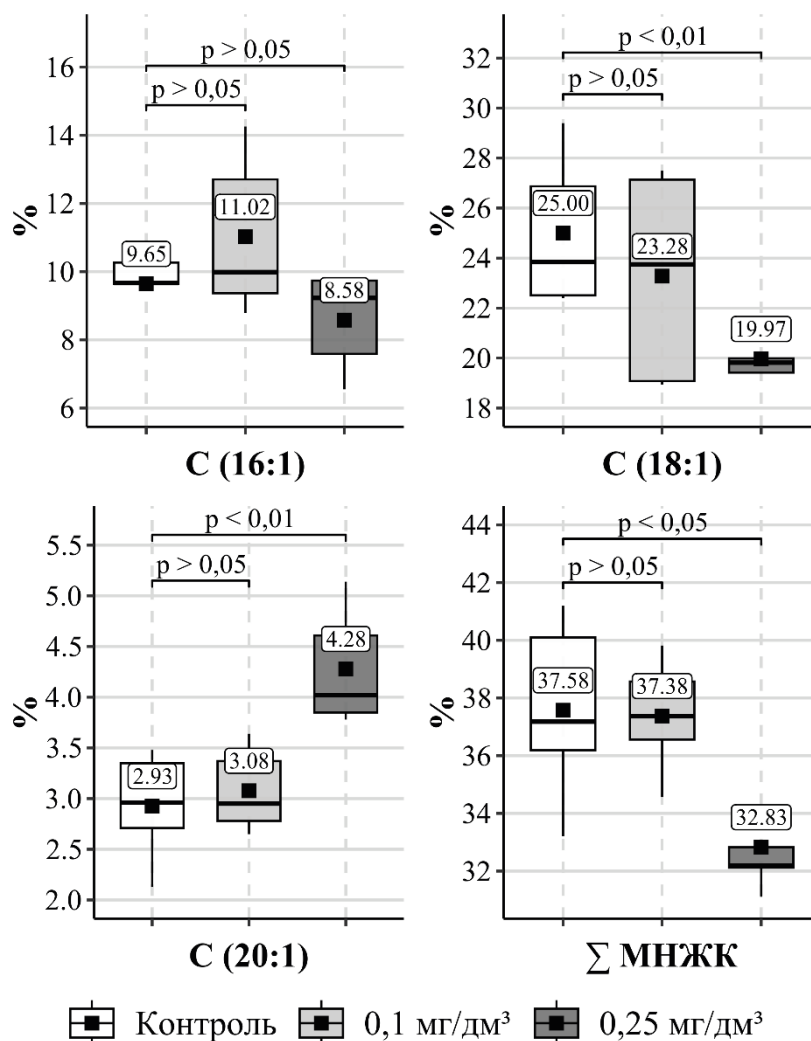


Рис. 4.18. Вміст мононенасичених жирних кислот у м'язах карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Натомість реакція обох видів характеризувалася накопиченням довголанцюгової ейкозенової кислоти (20:1). Її концентрація у карася зросла на 46,2 % за дії 0,25 мг/дм³ кобальту, а в організмі щуки збільшення цього показника становило 19,1 % та 23,6 % відповідно до впливу обох досліджуваних концентрацій зазначеного металу у воді. Зростання частки ейкозенової кислоти (20:1) здатне знижувати текучість клітинних мембран, підвищуючи їхню ригідність, що безпосередньо позначається на процесах трансмембранного транспорту, функціонуванні рецепторних комплексів та каталітичній активності мембранозв'язаних ензимів. Такі структурні

перебудови узгоджуються з концепцією гомеовіскозної адаптації, згідно з якою ремоделювання ліпідного профілю виступає ключовим компенсаторним механізмом, спрямованим на стабілізацію фізико-хімічних параметрів біомембран в умовах токсичного стресу (Ernst et al., 2016; Yang et al., 2011).

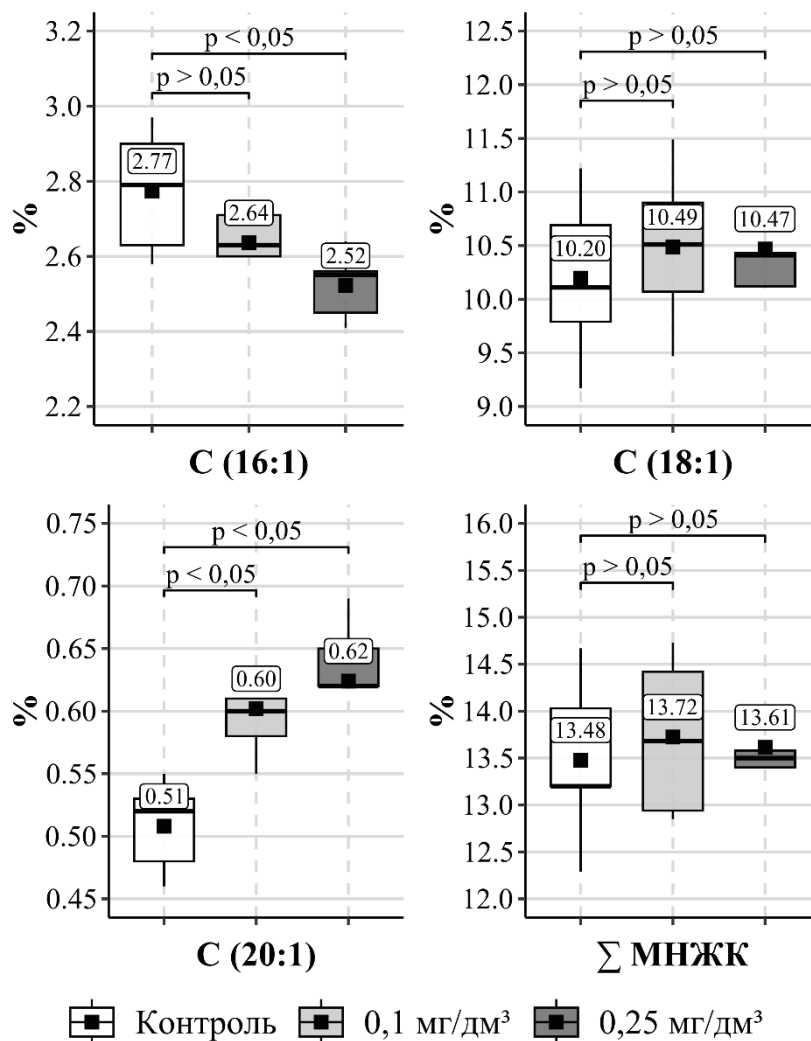


Рис. 4.19. Вміст мононенасичених жирних кислот у м'язах щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Частка олеїнової кислоти (18:1) у м'язах риб була найвищою, тому відповідно її зниження за дії  $0,25 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$  у карася призвело до зниження сумарного вмісту МНЖК. Зниження рівня згаданої ЖК, ймовірно, може бути результатом її активного використання у процесі ліпідної перебудови та відновлення клітинної мембрани. Подібні метаболічні реакції спостерігаються у моделях стресової відповіді, коли короткі МНЖК конвертуються або

направляються у синтез ПНЖК для збереження фізико-хімічної стабільності мембран (Vieira et al., 2023).

Аналіз пулу поліненасичених жирних кислот виявив відмінну динаміку порівняно із змінами профілю насичених та мононенасичених ЖК. Встановлено, що у м'язовій тканині карася за впливу іонів кобальту в концентрації 0,25 мг/дм<sup>3</sup> сумарний вміст ПНЖК зріс на 23,2 % (Рис. 4.20). Найбільш виражених змін за дії підвищених концентрацій токсиканту зазнав рівень докозагексаєнової кислоти (22:6), частка якої дозозалежно збільшилася на 29,2 % та 78,8 % відповідно.

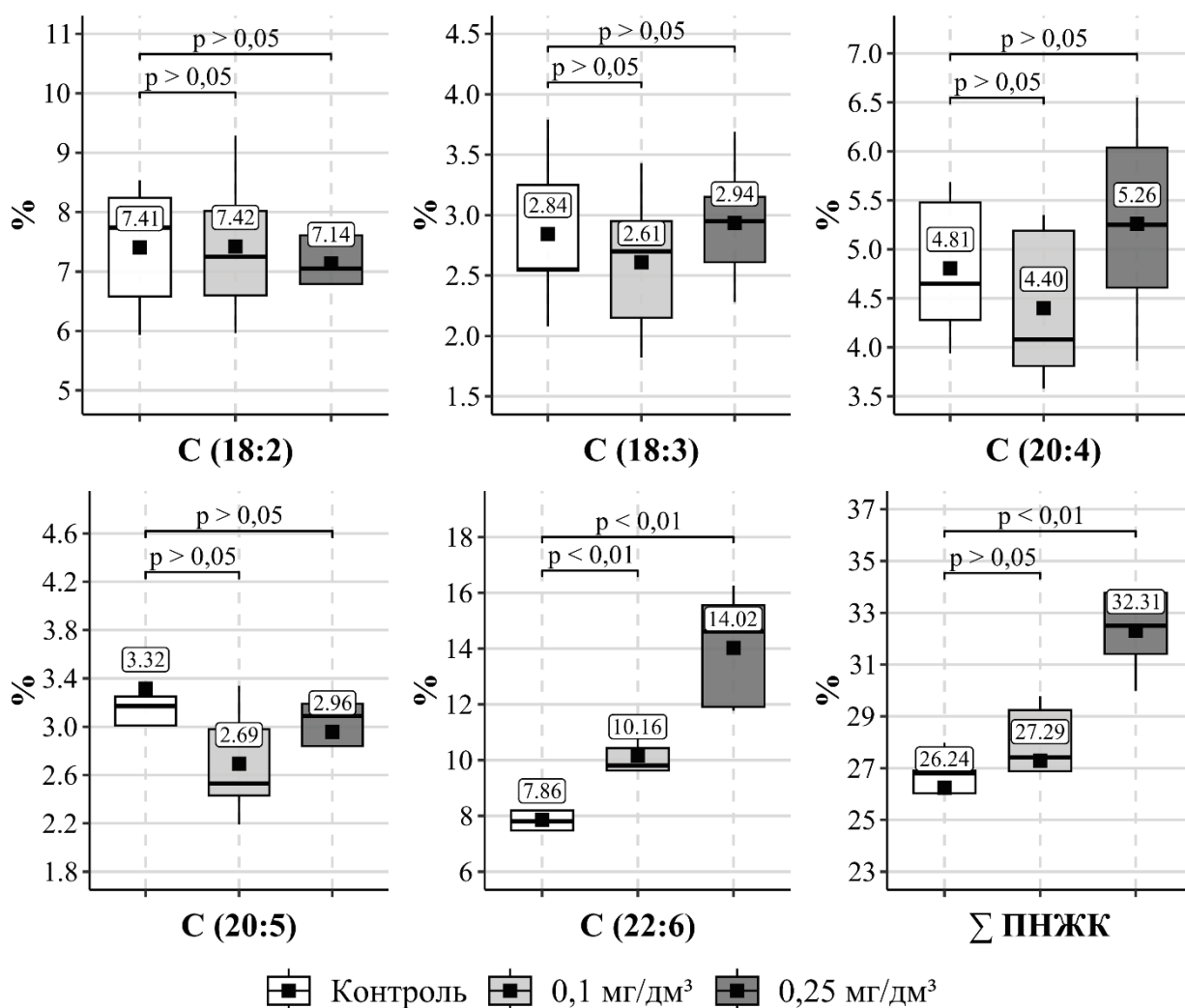


Рис. 4.20. Вміст поліненасичених жирних кислот у м'язах карася за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Натомість в організмі щуки зафіксовано системну перебудову профілю інших ключових ПНЖК (Рис. 4.21). Зокрема, експозиція за максимальної

концентрації кобальту індукувала зростання вмісту лінолевої кислоти (18:2) на 34,5 %. Рівень арахідонової кислоти (20:4) також підвищився на 7,6 % та 7,5 % для концентрацій 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> відповідно. Водночас частка ейкозапентаєнової кислоти (20:5) вірогідно знизилася на 12,4 % та 19,1 % відносно контрольних показників за дії обох досліджуваних концентрацій металу.

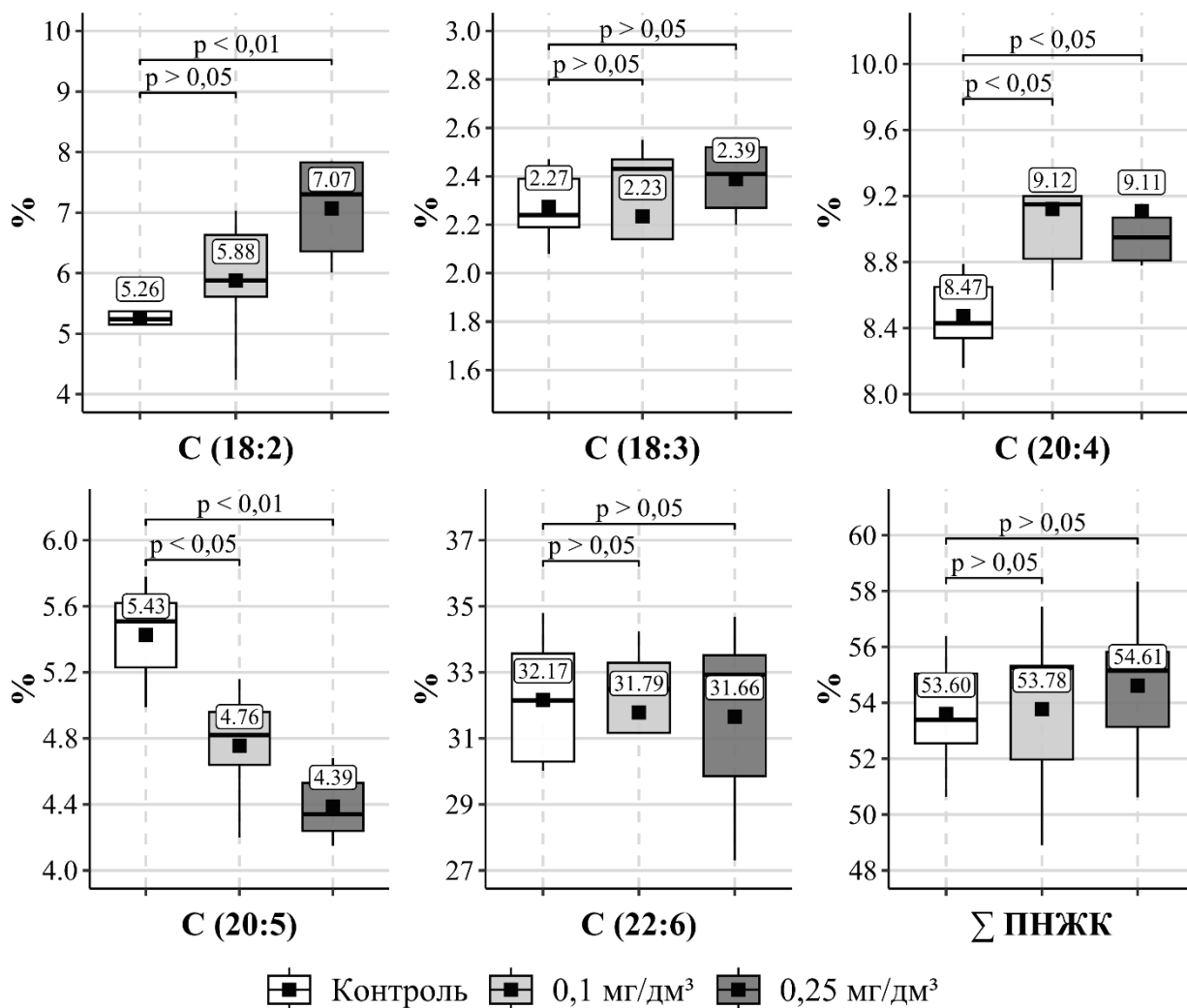


Рис. 4.21. Вміст поліненасичених жирних кислот у м'язах щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Накопичення іонів кобальту чинить виражений вплив на ліпідний гомеостаз риби. Динаміка жирнокислотного складу м'язів виступає високочутливим біомаркером, що вказує на розвиток токсико-індукованих пошкоджень та одночасний запуск складних адаптивних механізмів,

спрямованих на підтримку стабільності клітинних мембран та метаболічного статусу організму.

#### **Висновки до розділу IV.**

Встановлено виражену тканинну специфічність розподілу загального вмісту ліпідів в організмі досліджуваних прісноводних риб. Показано, що у зябрах карася цей показник залишається без змін, тоді як у печінці відбувається достовірне накопичення ліпідів. Доведено, що адаптація до токсичного впливу іонів кобальту супроводжується односпрямованою реакцією скелетних м'язів обох видів риб, що відображає інтенсивну мобілізацію резервних структурних та енергетичних компонентів для забезпечення енергозатратних компенсаторних реакцій організму за умов стресу.

Показано, що модифікація ліпідного складу в тканинах досліджуваних риб є видоспецифічною та безпосередньо залежить від концентрації іонів кобальту у водному середовищі та тривалості експозиції. Спільною реакцією для карася і щуки є інтенсифікація ліполізу, що підтверджується системним зниженням вмісту ТАГ у печінці та скелетних м'язах. Цей процес супроводжується накопиченням проміжних продуктів деградації (МАГ, ДАГ) та достовірним зростанням пулу НЕЖК у більшості досліджених тканин.

Виявлено, що структурна реорганізація пулу фосфоліпідів клітинних мембран за умов інтоксикації іонами кобальту має виражену видову специфічність. Організм щуки демонструє значну дестабілізацію ліпідного бішару клітин, що підтверджується системними змінами частки більшості фракцій ФЛ у зябрах, печінці та м'язах. Натомість фосфоліпідний склад метаболічних і депонуючих тканин (печінки та м'язів) карася відзначається вищою стабільністю та значно меншою кількістю статистично значущих відхилень. Виявлено спільне для обох видів риб підвищення рівня ФХ у зябрах, яке супроводжується зниженням вмісту інших фракцій, зокрема СФМ та ФЕА. Такі зміни вказують на інтенсивну перебудову мембран первинного

бар'єра для підтримки їхньої цілісності в умовах прямого контакту з іонами металу.

Доведено видові відмінності змін профілю НЖК у м'язах риб, оскільки у карася спостерігається перерозподіл окремих фракцій, тоді як у щуки за дії максимальної концентрації металу відбувається системне виснаження пулу НЖК, що проявляється у вірогідному зниженні часток усіх п'яти досліджуваних насичених кислот. З'ясовано, що спільною неспецифічною реакцією обох видів риб на дію іонів кобальту є інтенсивне накопичення довголанцюгової ейкозенової кислоти (20:1). Цей процес супроводжується одночасним зниженням вмісту коротших МНЖК: олеїнової кислоти (18:1) у м'язах карася та пальмітолеїнової (16:1) – у щуки.

Виявлено, що у м'язах карася сумарний вміст ПНЖК зростає за рахунок стрімкого дозозалежного накопичення докозагексаєнової кислоти (22:6). У щуки натомість розвивається структурний дисбаланс ключових кислот: акумуляція лінолевої (18:2) та арахідонової (20:4) супроводжується стійким виснаженням пулу ейкозапентаєнової кислоти (20:5). Ці дані мають важливе прагматичне значення для оцінки харчової цінності та якості рибної продукції, отриманої з водойм, що зазнають впливу важких металів.

За результатами представленими в розділі IV, опубліковані наступні роботи:

1. Markiv, V. S., Khomenchuk, V. O., & Kurant, V. Z. (2025). Influence of elevated concentrations of cobalt ions on content of non-polar lipids in freshwater fish tissues. *Hydrobiological Journal*, 61(6), 69–79. <https://doi.org/10.1615/hydrobj.v61.i6.50>
2. Markiv, V. S., Petrushka, B. M., Khomenchuk, V. O., & Kurant, V. Z. (2025). 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*, 27(3), 61–67. <https://doi.org/10.15407/animbiol27.03.061>

3. Марків, В. С., Хоменчук, В. О., та Курант, В. З. (2026). Фосфоліпідний склад тканин прісноводних риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту. *Гідробіологічний журнал*, 62(1), 66–77.
4. Марків В. С., Хоменчук В. О., Рабченко О. О., Поляний Б. Б., Курант В. З. Особливості вмісту неполярних ліпідів в організмі прісноводних риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту (II) // Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023 : матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції (11–13 травня 2023 р.). Тернопіль : Вектор, 2023. С. 258-261. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/29678>
5. Марків В. С., Хоменчук В. О., Семенюк О. І., Курант В. З. Використання показників ліпідного обміну риб для біоіндикації забруднення гідроекосистем іонами кобальту // Якість води: біомедичні, технологічні, агропромислові і екологічні аспекти: Збірник матеріалів II Міжнародної науково-технічної конференції. (Тернопіль 24–25 травня 2023 року) / М-во освіти і науки України, Терн. націон. техн. ун-т ім. І. Пулюя (та ін.). – Тернопіль: ФОП Паляниця В. А., 2023. – 109 с. <http://elartu.tntu.edu.ua/handle/lib/42205>
6. Марків В. С., Хоменчук В. О., Росовський Т. А., Курант В. З. Фосфоліпідний склад тканин щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту // Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024 : матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 18-19 квітня 2024 р.), С. 172-175. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/34065>
7. Марків В. С., Хоменчук В. О., Іваніцький Б. О. Курант В. З. Особливості вмісту ліпідів в тканинах щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту (II) // Сучасні проблеми біології, екології та хімії : матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Запоріжжя, 25–27 квіт. 2024 р.). Запоріжжя : Поліграфічний центр «СоруArt», 2024. С. 32–34.

8. Хоменчук В. О., Марків В. С., Вовчек Н. О., Іваніцький Б. О., Курант В. З. Склад жирних кислот м'язів карася за дії сублетальних концентрацій іонів кобальту // Екологічний стан навколишнього середовища та раціональне природокористування в контексті сталого розвитку : матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції (24–25 жовтня 2024 року, м. Херсон) / ХДАЕУ. – Одеса : Олді+, 2024. С. 286-288.
9. Марків В. С., Хоменчук В. О., Мяхкота О. П., Курант В. З. Порівняльна характеристика фракційного складу фосфоліпідів у тканинах карася і щуки за дії сублетальних концентрацій іонів кобальту // Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2025 : матеріали VIII Міжнародної науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 01-02 травня 2025 р.), С. 166-170. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/38077>
10. Марків В. С., Петрушка М. Б., Хоменчук В. О., Курант В. З. Вплив іонів кобальту на жирнокислотний склад м'язів прісноводних риб // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології: Матеріали XV Міжнародної іхтіологічної науково-практичної конференції (м. Київ 17–19 вересня 2025 р.), С. 97-101.

## **РОЗДІЛ V. ВПЛИВ ПІДВИЩЕНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ КОБАЛЬТУ НА СТАН АНТИКОСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПЕРОКСИДНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНІЗМІ РИБ**

Біоаккумуляція іонів важких металів каталізує утворення активних форм кисню (АФК), тим самим перевантажуючи внутрішні антиоксидантні захисні механізми (Massoud et al 2021). Щоб адаптуватися до надмірного накопичення АФК, організми запускають широкомасштабну активацію внутрішнього захисту. Зокрема, ця захисна реакція включає посилення активності ключових ферментів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіон-S-трансфераза, разом із одночасною мобілізацією неферментативних сполук - загального глутатіону, аскорбінової кислоти, вітаміну Е, токоферолів, поліфенолів тощо (Abdel-Aziz et al., 2022; Fadhlaoui & Couture, 2016; Turan et al., 2020). Загальна антиоксидантна активність є інформативним показником клітинного захисту, що кількісно визначає сукупний вплив усіх антиоксидантів, присутніх в організмі, відображаючи їхню здатність протидіяти вільним радикалам. Цей підхід пропонує більш повну оцінку загальної стійкості організму до оксидативного пошкодження, ніж розгляд лише окремих маркерів (Li et al., 2018).

В результаті збільшення продукування АФК та модуляції антиоксидантної системи захисту може виникнути небезпечний дисбаланс, який призводить до оксидативного стресу в організмі гідробіонтів. Цей стан особливо шкідливий для риб і часто спричиняє значне пероксидне окислення ліпідів у їхніх тканинах (Massoud et al. 2021). Для оцінки ступеня ПОЛ, зазвичай вимірюється концентрація ТБК-активних речовин, які є маркерами побічних продуктів окиснення. Ці метаболіти є особливо руйнівними, оскільки вони накопичуються в гідрофобному ядрі мембрани. Потрапляючи туди, вони дестабілізують структуру, порушуючи важливі нековалентні зв'язки, зокрема сили Ван-дер-Ваальса. Це руйнування перешкоджає взаємодії ліпідів з білками, зрештою порушуючи цілісність мембрани та функції вбудованих у неї білків (Fadhlaoui & Couture, 2016; Hedayati et al., 2021).

Застосування набору інтегрованих біомаркерів є ефективною стратегією оцінки стану водних екосистем, що, на відміну від простого вимірювання рівня забруднення гідроекосистем металами, дає важливу інформацію про фактичний біологічний стан організму гідробіонтів (Moussa et al., 2022).

### 5.1. Загальна антиоксидантна активність у тканинах риб

Як показали результати аналізу, підвищені концентрації іонів кобальту спричинили неоднакові зміни загальної антиоксидантної активності у зябрах риб. Так, загальна антиоксидантна активність у зябрах карася обох дослідних груп практично не відрізнялась від контролю, тоді як у зябрах щуки за дії обох концентрацій кобальту виявлено збільшення цього показника на 10,3 % і 7,5 % відповідно (рис. 5.1).

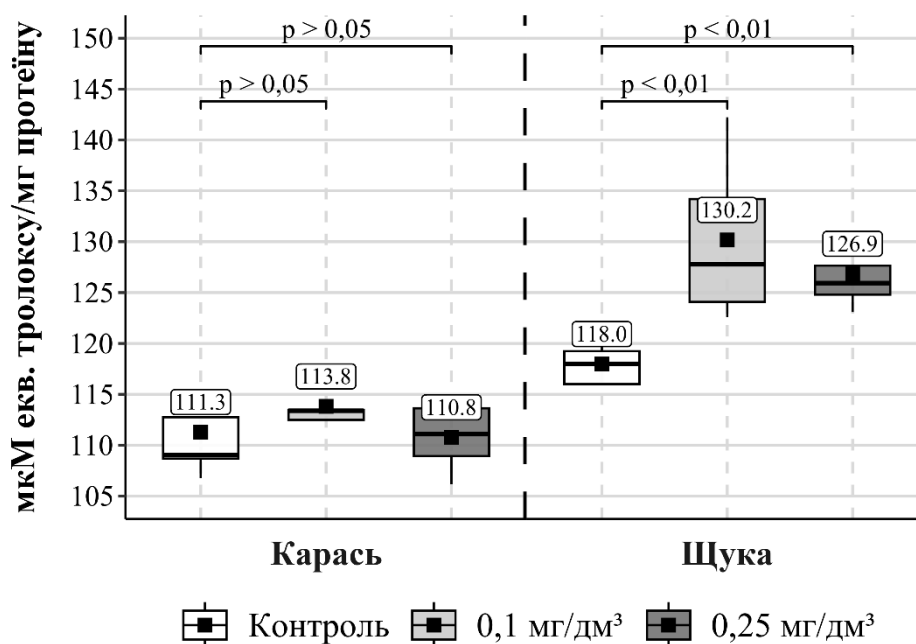


Рис. 5.1. Загальна антиоксидантна активність у зябрах риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

За дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту виявили збільшення загальної антиоксидантної активності на 8,5 % у печінці карася, та на 7,9 % - у щуки (рис. 5.2). За максимальної концентрації металу достовірних змін у печінці досліджуваних видів риб не було.

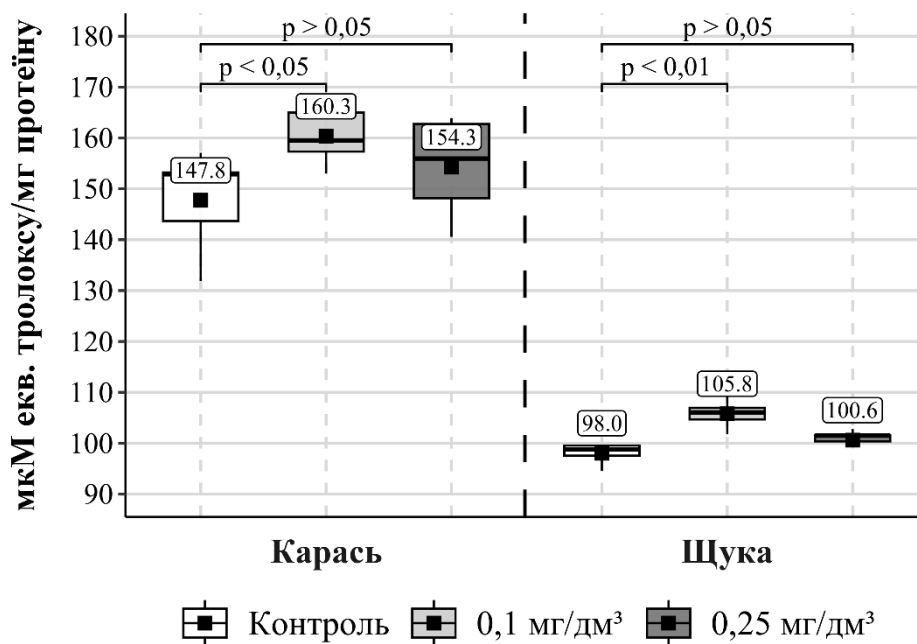


Рис. 5.2. Загальна антиоксидантна активність у печінці риб за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У м'язах карася і щуки не спостерігалось достовірних змін загальної антиоксидантної активності за дії обох концентрацій іонів кобальту (рис. 5.3).

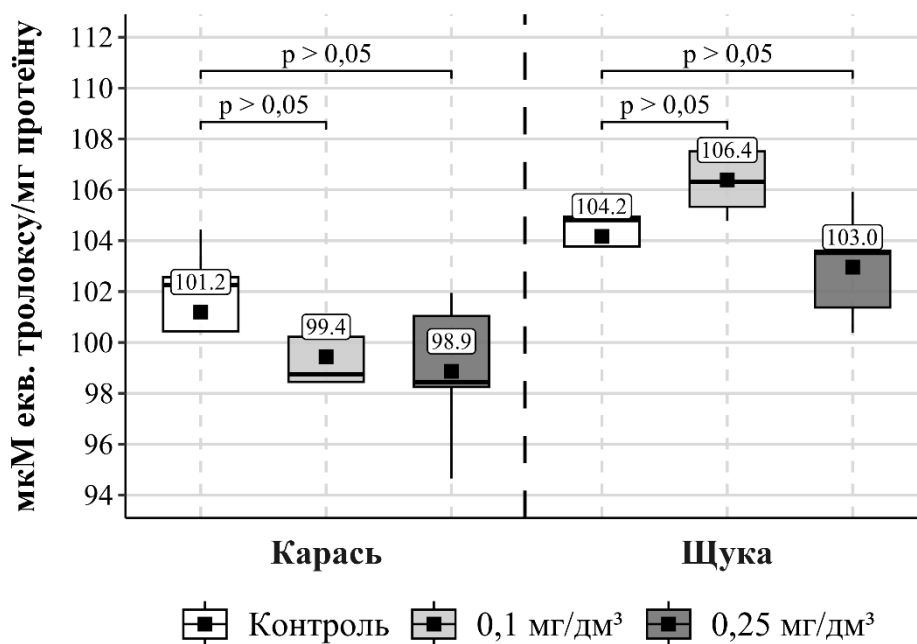


Рис. 5.3. Загальна антиоксидантна активність у м'язах риб за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Таким чином, результати дослідження засвідчили, що іони кобальту стимулюють адаптивне зростання загальної антиоксидантної активності,

проте ця відповідь є тканинноспецифічною. Найбільш виражена активація характерна для зябер щуки, тоді як у печінці обох видів риб захисний ефект проявляється лише за впливу концентрації 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів металу, а в м'язах статистично значущих змін показника не зафіксовано.

## 5.2. Активність каталази у печінці риб

У печінці карася виявили зменшення активності каталази на 22,6 % за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту, тоді як у щуки навпаки цей показник збільшився на 38,7 % і 33,1 % за впливу обох концентрацій досліджуваного металу відповідно (рис. 5.4).

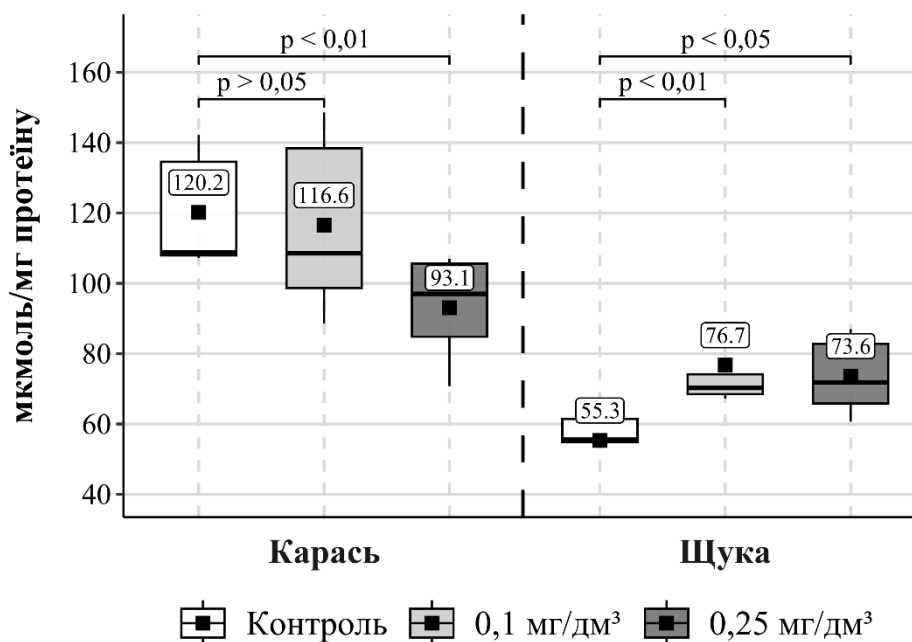


Рис. 5.4. Активність каталази у печінці риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Отже, зміни активності каталази як ключового ферменту нейтралізації пероксиду водню за дії токсикантів вказують на чітку видоспецифічну реакцію печінки риб на вплив Co<sup>2+</sup>. Адаптивне зростання цього показника у щуки свідчить про активну мобілізацію антиоксидантного захисту, тоді як в карася зниження активності ферменту може свідчити про компенсаторний перерозподіл навантаження на інші ланки антиоксидантної системи (Bagnyukova et al., 2005).

### 5.3. Активність глутатіон-S-трансферази у тканинах риб

Як ключовий фермент другої фази детоксикації, глутатіон-S-трансфераза захищає клітину, каталізуючи процес кон'югації глутатіону до реактивних електрофілів і продуктів пероксидного окислення ліпідів, перетворюючи ці токсичні сполуки в розчинні форми, що виводяться з організму (Araujo et al., 2022; Abdel-Aziz et al., 2022). У зябрах обох видів риб спостерігали збільшення активності глутатіон-S-трансферази за дії досліджуваного металу. Зокрема у зябрах карася даний показник збільшився на 37,7 % за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту, а у щуки – на 27,0 % і 16,5 % за дії обох концентрацій Co<sup>2+</sup> відповідно (рис. 5.5).

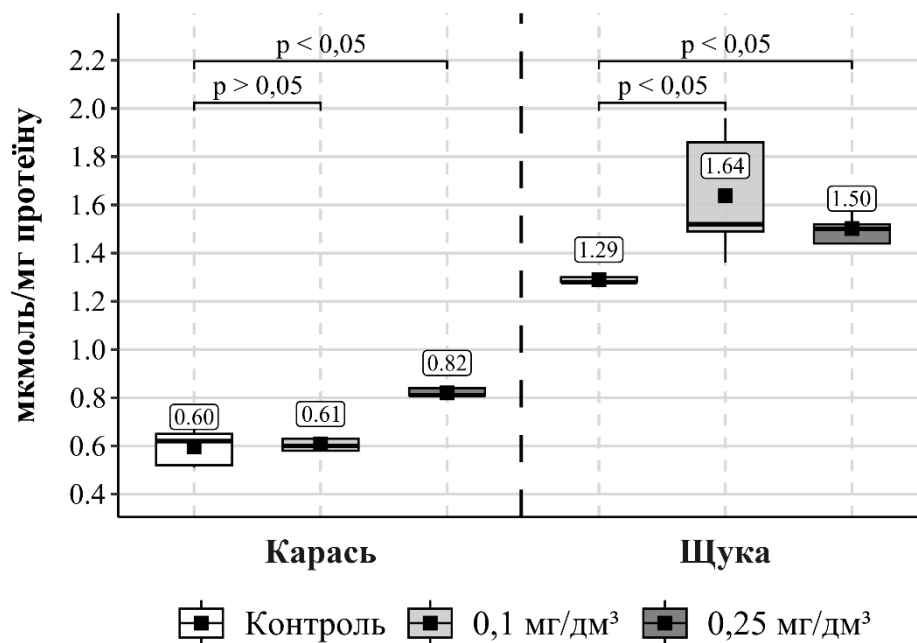


Рис. 5.5. Активність глутатіон-S-трансферази у зябрах риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

У печінці карася виявили збільшення активності глутатіон-S-трансферази на 24,0 % за впливу 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів досліджуваного металу (рис. 5.6). У печінці щуки цей показник зменшився на 11,1 % за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup>.

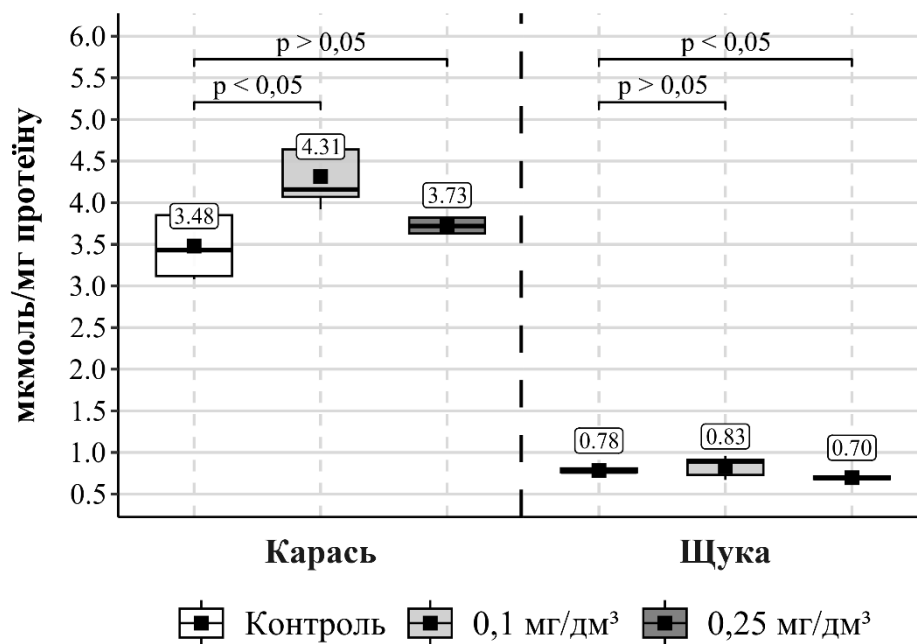


Рис. 5.6. Активність глутатіон-S-трансферази у печінці риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У м'язах обох досліджуваних риб спостерігалось зменшення активності глутатіон-S-трансферази, при цьому тільки у тканинах карася ці зміни були достовірними – 28,5 % і 26,9 % за дії обох концентрацій іонів кобальту відповідно (рис. 5.7).

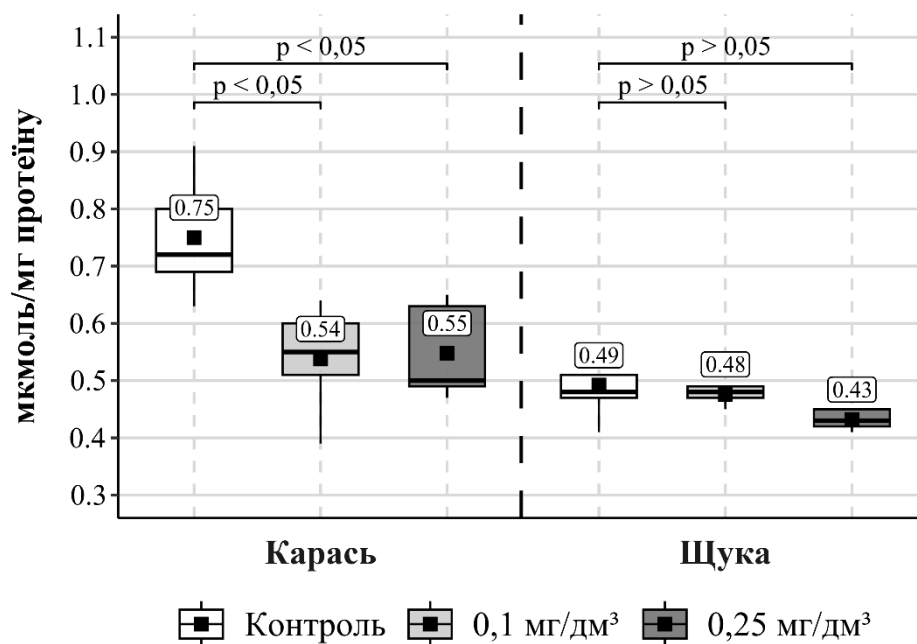


Рис. 5.7. Активність глутатіон-S-трансферази у м'язах риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Система ферментативної детоксикації за участю глутатіон-S-трансферази у карася функціонує більш ефективно, забезпечуючи активний захист у зябрах та печінці, тоді як у щуки адаптаційні резерви є значно слабшими, що призводить до швидкого пригнічення ферменту у внутрішніх органах.

#### 5.4. Вміст загального глутатіону у тканинах риб

Глутатіон відіграє ключову роль у клітинному захисті від оксидативного стресу шляхом прямої взаємодії SH-групи з АФК або участі в ферментативних реакціях їх детоксикації як кофактор або кофермент (Abdel-Aziz et al., 2022). У зябрах карася виявили збільшення вмісту загального глутатіону на 56,4 % за впливу максимальної концентрації досліджуваного металу (рис. 5.8). У зябрах щуки вміст глутатіону зменшився 18,0 % і 23,4 % за впливу 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів Co<sup>2+</sup> відповідно. Дефіцит глутатіону зумовлює підвищену чутливість клітин до дії прооксидантів, яка не може бути повністю компенсована навіть за наявності достатнього рівня експресії та активності антиоксидантних ензимів (Grădinaru et al., 2025).

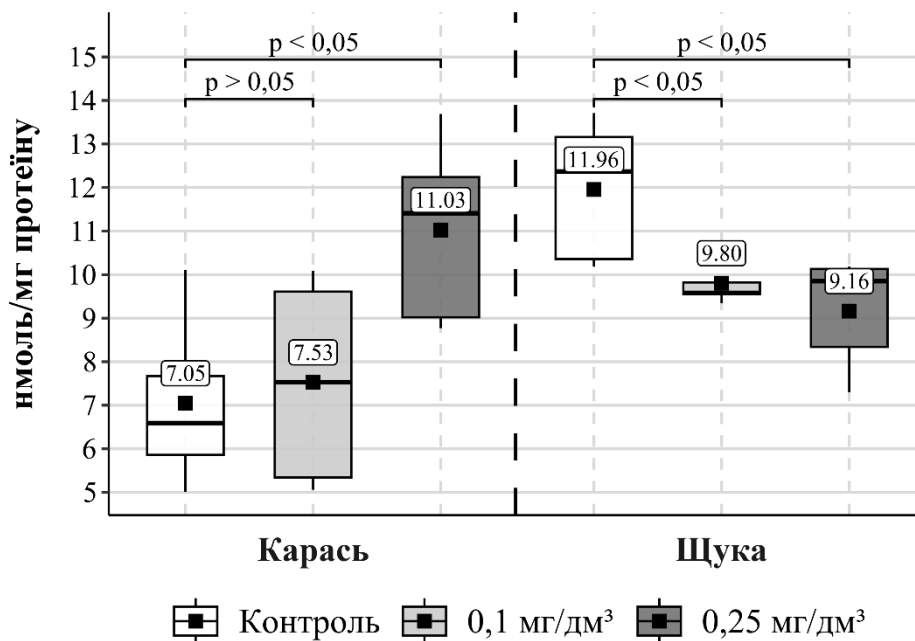


Рис. 5.8. Вміст загального глутатіону у зябрах риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Як і у зябрах, у печінці досліджуваних риб зміни вмісту загального глутатіону були видоспецифічними. Так у карася даний показник збільшився на 43,2 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів Co<sup>2+</sup>, та на 29,4 % за впливу 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів металу (рис. 5.9). Синтезований у печінці глутатіон забезпечує ефективну детоксикацію поллютантів через механізми хелатування та запобігає розвитку оксидативного стресу шляхом поглинання АФК (Abdel-Aziz et al., 2022). Проте у печінці щуки вміст глутатіону зменшився на 31,9 % і 36,8 % за впливу обох концентрацій іонів кобальту відповідно. Завдяки своїй вираженій спорідненості до сульфгідрильних (–SH) залишків, катіони важких металів легко утворюють координаційні комплекси з глутатіоном, використовуючи його тіолятну сірку як основний ліганд. Крім того, взаємодія з окисно-відновними перехідними металами, такими як Cu<sup>2+</sup> та Fe<sup>2+</sup>, каталізує окислення глутатіону, що безпосередньо призводить до утворення реакційноздатних тіолових та гідроксильних радикалів (Falcone et al., 2023).

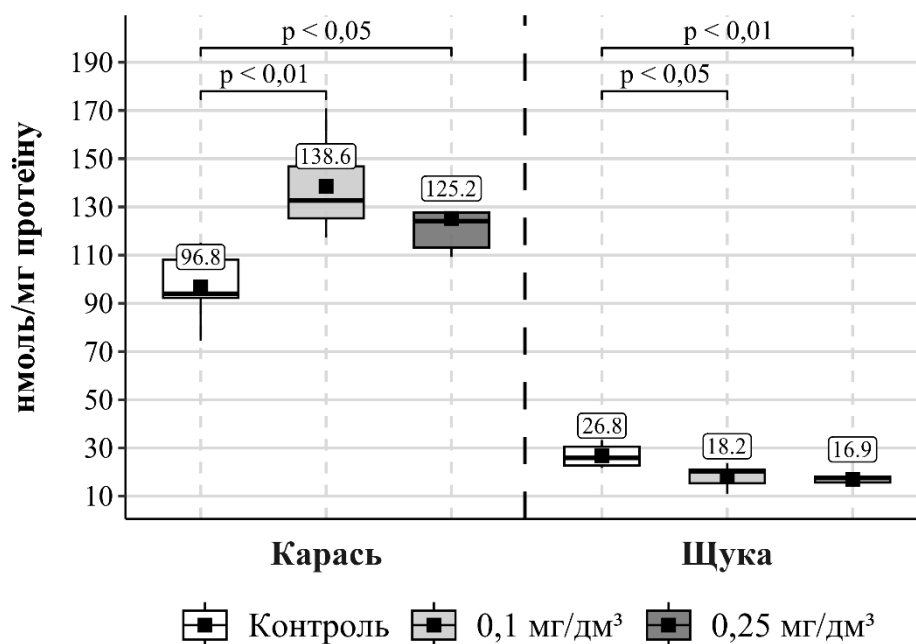


Рис. 5.9. Вміст загального глутатіону у печінці риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

Аналіз вмісту глутатіону у м'язах риб показав збільшення цього показника на 33,3 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у карася, та на 28,7 % і 61,6 % за впливу обох концентрацій досліджуваного металу у щуки (рис. 5.10).

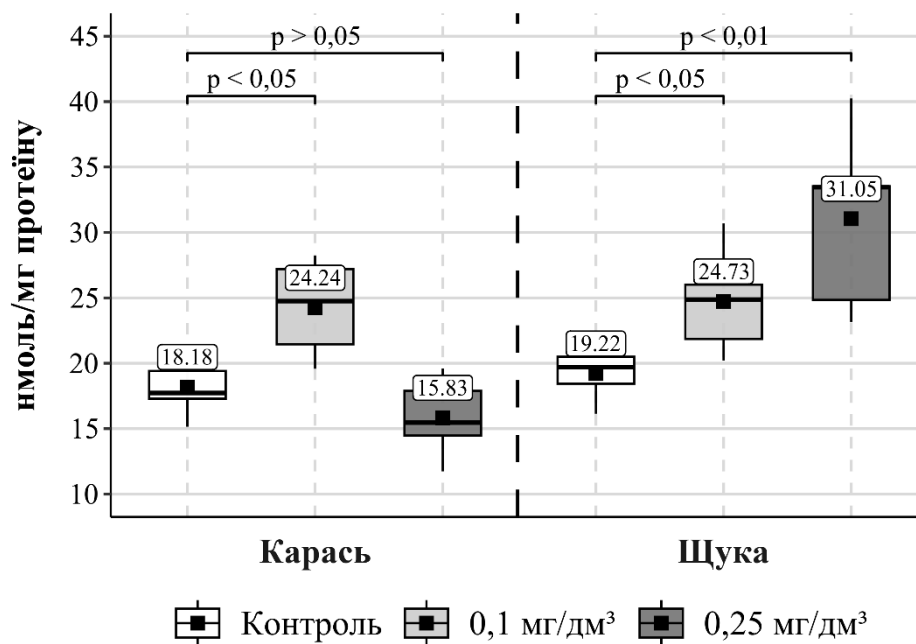


Рис. 5.10. Вміст загального глутатіону у м'язах риб за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Таким чином, за однакового впливу  $Co^{2+}$  у воді організм карася демонструє вищу стійкість та здатність до посилення глутатіонового антиоксидантного захисту, тоді як у щуки в ключових органах дихання (зябра) та детоксикації (печінка) настає дефіцит глутатіону, що свідчить про зрив адаптаційних механізмів та розвиток оксидативного стресу.

### 5.5. Пероксидне окиснення ліпідів у тканинах риб

Надмірна генерація активних форм кисню, що ініціюється, зокрема, участю  $Co^{2+}$  у реакціях типу Фентона, зумовлює модуляцію антиоксидантного статусу та розвиток оксидативного стресу, що супроводжується інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів у тканинах риб (Massoud et al., 2021). Рівень протікання цих деструктивних процесів традиційно оцінюють за концентрацією ТБК-активних продуктів, які є маркерами оксидативної деградації біомолекул (Hedayati et al., 2021). Результати досліджень свідчать про інтенсифікацію процесів ПОЛ у зябрах досліджуваних видів риб. Проте статистично значуще зростання даного

показника на 31,4 % було зафіксовано виключно у щуки за умови впливу  $\text{Co}^{2+}$  в концентрації  $0,1 \text{ мг/дм}^3$  (рис. 5.11).

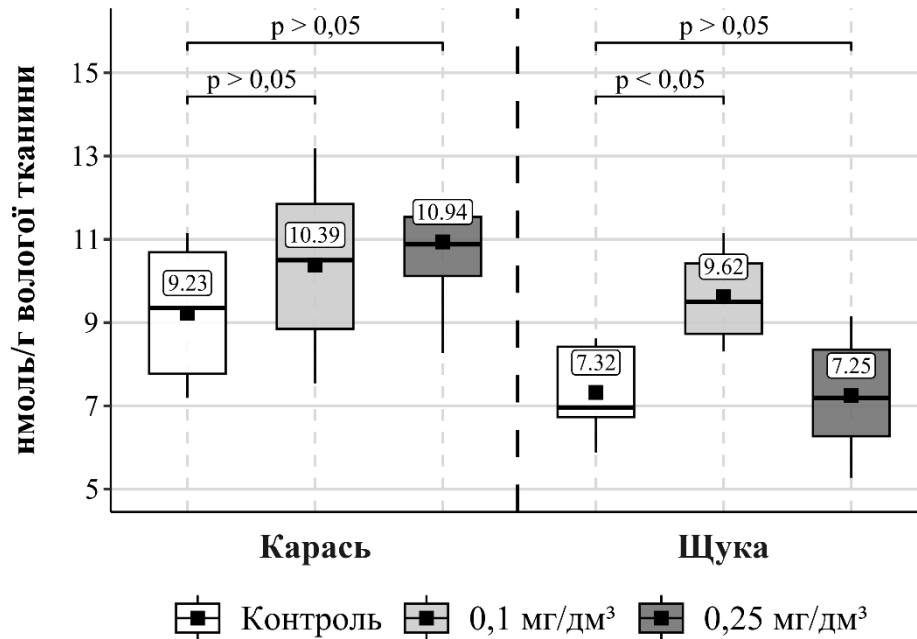


Рис. 5.11. Пероксидне окиснення ліпідів у зябрах риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

У печінці карася виявили зменшення пероксидного окиснення ліпідів на 58,3 % і 35,5 % у двох дослідних групах риб порівняно із контрольними взірцями (рис. 5.12).

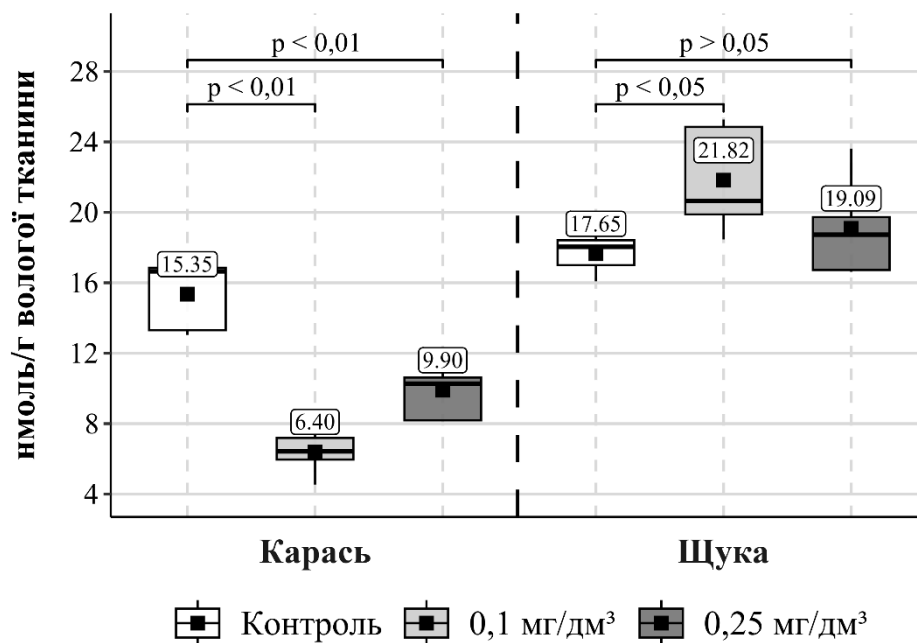


Рис. 5.12. Пероксидне окиснення ліпідів у печінці риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Тоді як у печінці щуки спостерігали збільшення цього показника на 23,7 % за впливу 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів Co<sup>2+</sup>.

Зміни ПОЛ у м'язах риб за дії іонів кобальту також були видоспецифічними. Зокрема даний показник зменшився на 23,3 % і 25,5 % у м'язах карася і збільшився на 39,2 % і 31,3 % у м'язах щуки за дії обох концентрацій іонів досліджуваного металу відповідно (рис. 5.13).

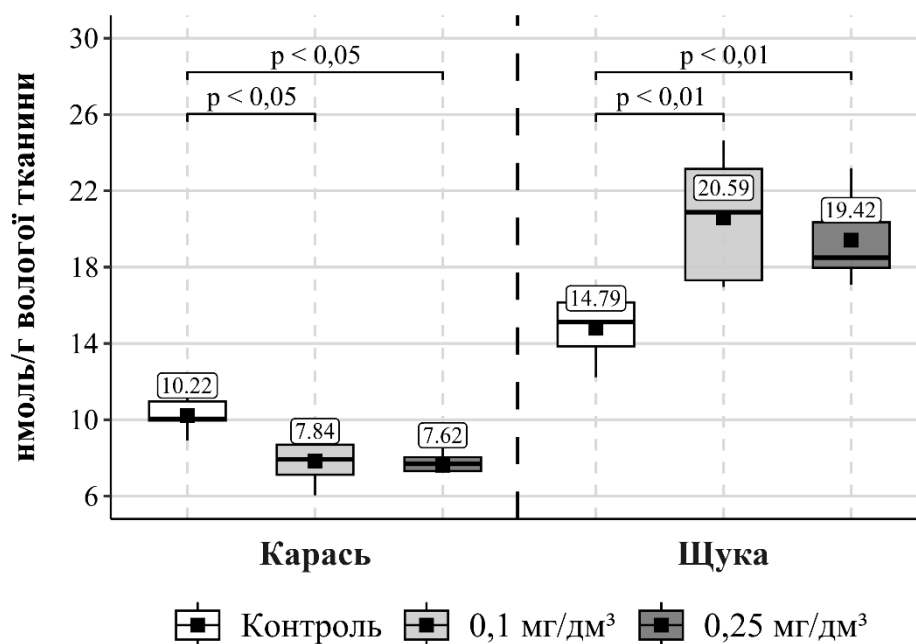


Рис. 5.13. Пероксидне окиснення ліпідів у м'язах риб за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (M ± m, n = 5).

В цілому слід зазначити активацію пероксидації ліпідів у зябрах карася та в усіх тканинах щуки за водної інтоксикації іонами кобальту.

### Висновки до розділу V.

Вплив підвищених концентрацій іонів кобальту на антиоксидантну систему та інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у гідробіонтів має виражений видоспецифічний характер. Фізіологічна відповідь визначається екологічними та метаболічними особливостями досліджуваних видів риб. Карась демонструє високу резистентність до інтоксикації іонами кобальту, а також здатність до антиоксидативної гіперкомпенсації. Це підтверджується зниженням рівня ПОЛ у печінці та м'язах. Захисна реакція цього виду забезпечується суттєвим збільшенням вмісту загального глутатіону в зябрах

та печінці, а також підвищенням активності глутатіон-S-трансферази. Завдяки таким механізмам карась може слугувати ефективною моделлю для вивчення фізіологічної адаптації у сильно забрудненому середовищі.

Організм щуки виявився значно вразливішим до дії іонів кобальту. Інтотоксикація супроводжується інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення ліпідів у всіх досліджуваних тканинах. Водночас спостерігається виснаження неферментативної ланки захисту, що проявляється у зниженні вмісту загального глутатіону в зябрах та печінці. Попри описані вище зміни, у щуки зафіксовано компенсаторне підвищення загальної антиоксидантної активності у зябрах, а також зростання активності каталази у печінці та глутатіон-S-трансферази у зябрах. Проте цих механізмів виявляється недостатньо для повної нейтралізації оксидативного стресу.

Отримані результати обґрунтовують доцільність використання щуки як високочутливого модельного об'єкта для ранньої діагностики забруднення водних екосистем важкими металами. Досліджені ферментативні (каталаза, глутатіон-S-трансфераза) та неферментативні (загальний глутатіон) біомаркери є надійними та інформативними індикаторами для оцінки токсичності кобальту для гідробіонтів.

За результатами представленими в розділі V, опубліковані наступні роботи:

1. Марків, В. С. (2025). Біомаркери окисного стресу у карася та щуки за дії іонів кобальту. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*, 85(3), 13–19. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.25.3.2>

## РОЗДІЛ VI. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 6.1. Аналіз співвідношень фракцій ліпідів і жирних кислот за дії іонів кобальту.

Для підтримки оптимальної плинності клітинних мембран організм використовує цілеспрямовані регуляторні стратегії, які змінюють пропорційний баланс різних класів ліпідів. Встановлено, що зростання частки ХЛ змінює впорядкованість фосфоліпідів, що підвищує температуру плавлення бішару і забезпечує підтримання оптимальної в'язкості біомембрани (Грициняк та ін., 2010). Стехіометричне співвідношення ХЛ до ФЛ є одним із біохімічних індексів структурної впорядкованості клітинних мембран та основним визначальним чинником їх плинності у кісткових риб (Y. Zhang et al., 2020).

Окремі класи ФЛ здатні модулювати текучість біологічних мембран за рахунок специфічних фізико-хімічних властивостей, зокрема просторового розміру та ступеня гідратації їхніх полярних голівок під час взаємодії з молекулами води. Ця структурна гетерогенність призводить до протилежних впливів різних ліпідних класів на архітектоніку мембрани, зокрема присутність ФХ забезпечує зростання в'язкості та підвищення жорсткості ліпідного бішару (Fajardo et al., 2011). Враховуючи структурне домінування згаданих фракцій фосфоліпідів, їх співвідношення (ФХ/СФМ і ФХ/ФЕА) разом із індексом ХЛ/ФЛ слугують комплексними біофізичними маркерами плинності та проникності біологічних мембран.

Згідно аналізу отриманих даних виявлено, що експозиція досліджуваних риб у середовищі з підвищеним вмістом  $\text{Co}^{2+}$  супроводжується зниженням співвідношення ХЛ/ФЛ у зябрах карася на 24,0 % і 14,3 % та щуки на 34,4 % і 40,5 % за обох дослідних концентрацій іонів металу у воді відповідно (Рис. 6.1). З огляду на те, що зябра зазнають прямого впливу металу і відіграють провідну роль у процесах газообміну та осморегуляції, така зміна

ХЛ/ФЛ в обох видів риб відображає формування універсальної неспецифічної відповіді, спрямованої на модифікацію плинності клітинних мембран.

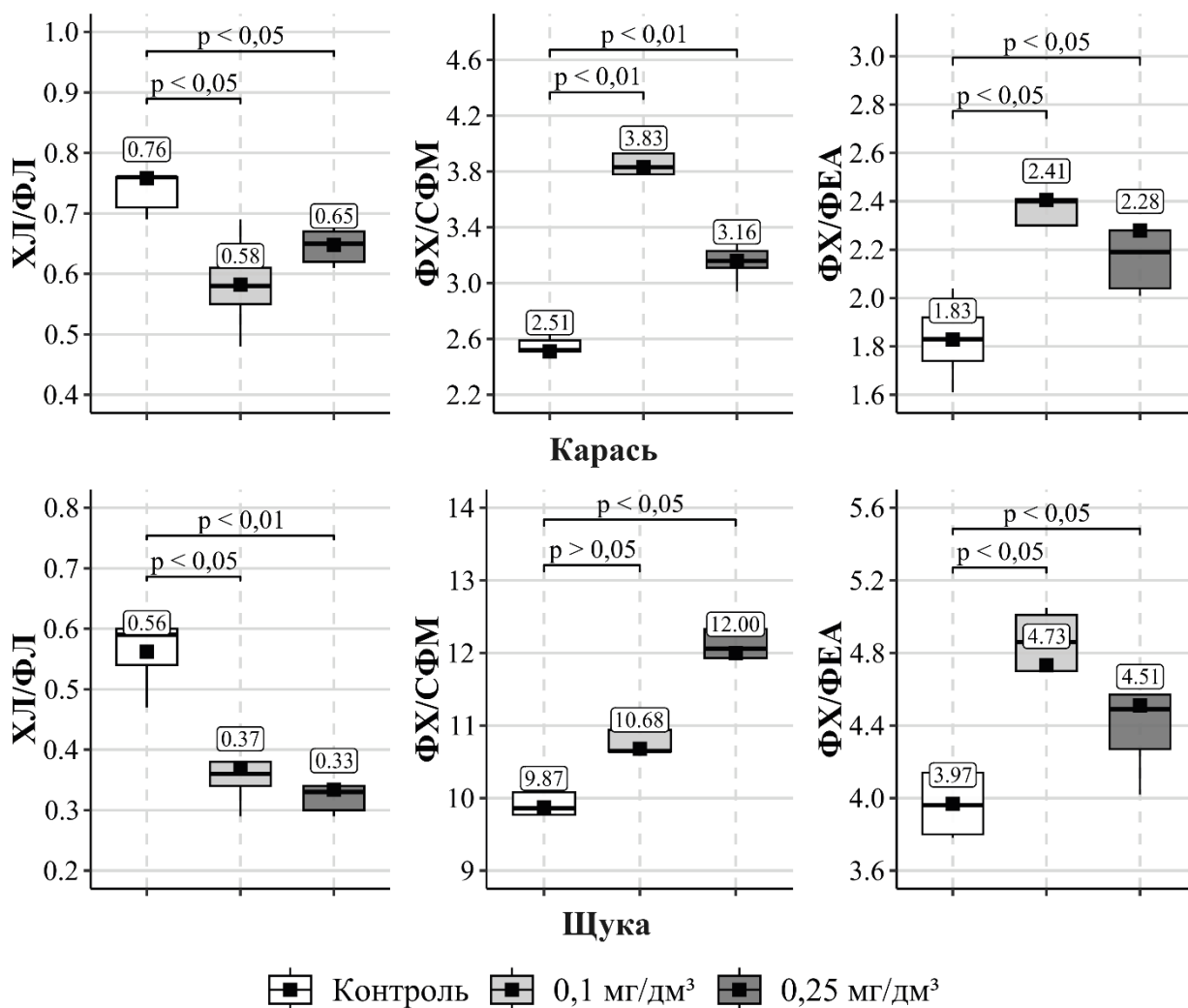


Рис. 6.1. Співвідношення фракцій ліпідів у зябрах риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Показано, що дія іонів кобальту індукує вірогідне підвищення співвідношення ФХ/СФМ у тканинах зябер досліджуваних видів риб. Зростання цього показника на 52,8 % і 25,9 % у карася за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів металу у воді, та на 21,5 % у щуки за максимальної концентрації  $\text{Co}^{2+}$  є наслідком структурної перебудови мембран, яка протікає на тлі інтенсивного виснаження вмісту СФМ. Завдяки порівняно високій температурі фазового переходу, сфінгомеліни сприяють підвищенню структурної впорядкованості ліпідного бішару, що відіграє визначальну роль у модуляції активності мембранозв'язаних ферментів та перебігу низки

клітинних процесів (Goñi, 2022; Slotte, 2013). Відповідно, зниження вмісту цієї фракції фосfolіпідів закономірно зумовлює підвищення загальної плинності біомембран.

Також експозиція за дії обох досліджених концентрацій  $\text{Co}^{2+}$  індукує у зябрах риб вірогідне зростання співвідношення ФХ/ФЕА на 31,5 % і 24,7 % у карася та на 19,3 % і 13,6 % у щуки. Така зміна пропорції структурних ліпідів відіграє ключову роль у модуляції кривизни ліпідного бішару та сприяє підвищенню загальної плинності клітинних мембран (Dawaliby et al., 2015).

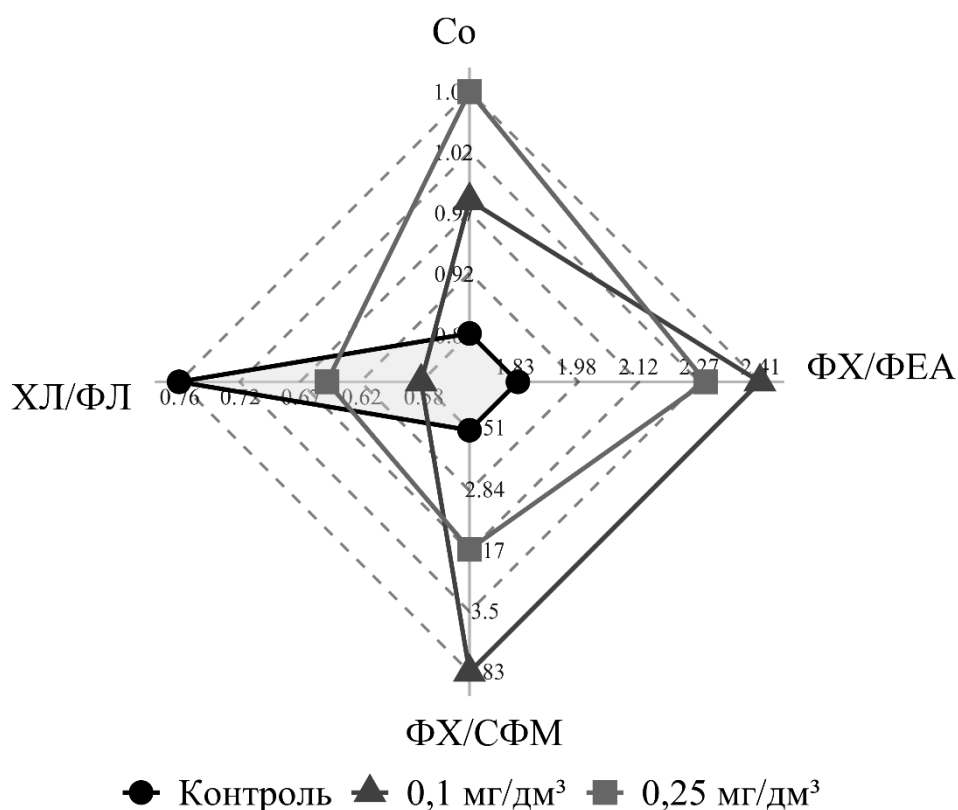


Рис. 6.2. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у зябрах карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Згідно з аналізом радарних діаграм (Рис. 6.2, 6.3) спільною адаптаційною реакцією для обох видів риб у відповідь на накопичення кобальту у тканинах зябер є загальний зсув ліпідного балансу в бік підвищення плинності клітинних мембран, про що свідчить зменшення співвідношення ХЛ/ФЛ та зростання індексів ФХ/СФМ та ФХ/ФЕА.

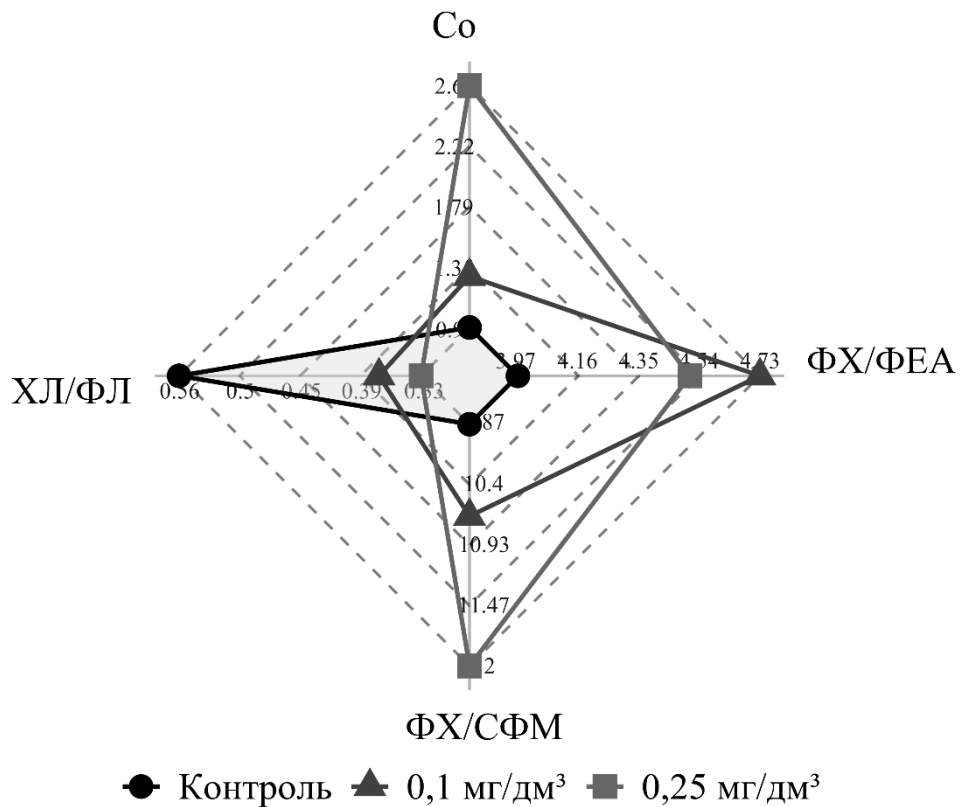


Рис. 6.3. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у зябрах щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Відмінність полягає у стратегії та стабільності цієї відповіді. Карась демонструє виражену нелінійну (двофазну) реакцію з мобілізацією плинності на початковому етапі стресу та її частковим виснаженням згодом. Щука ж реагує більш консервативно та плавно, оскільки зниження жорсткості біомембран є лінійним і поглиблюється з дозою, а зростання плинності за рахунок відносного зменшення частки СФМ відбувається із затримкою і стає достовірним лише за критичного токсичного навантаження.

Аналіз отриманих даних показав, що за дії  $0,1 \text{ мг/дм}^3$  і  $0,25 \text{ мг/дм}^3$  концентрацій  $\text{Co}^{2+}$  у печінці карася виявлено статистично значуще підвищення співвідношення ХЛ/ФЛ на 58,8 % і 47,1 %, що можна розглядати як компенсаторно-адаптивну реакцію організму на підвищення рівня токсиканта у водному середовищі (Рис. 6.4).

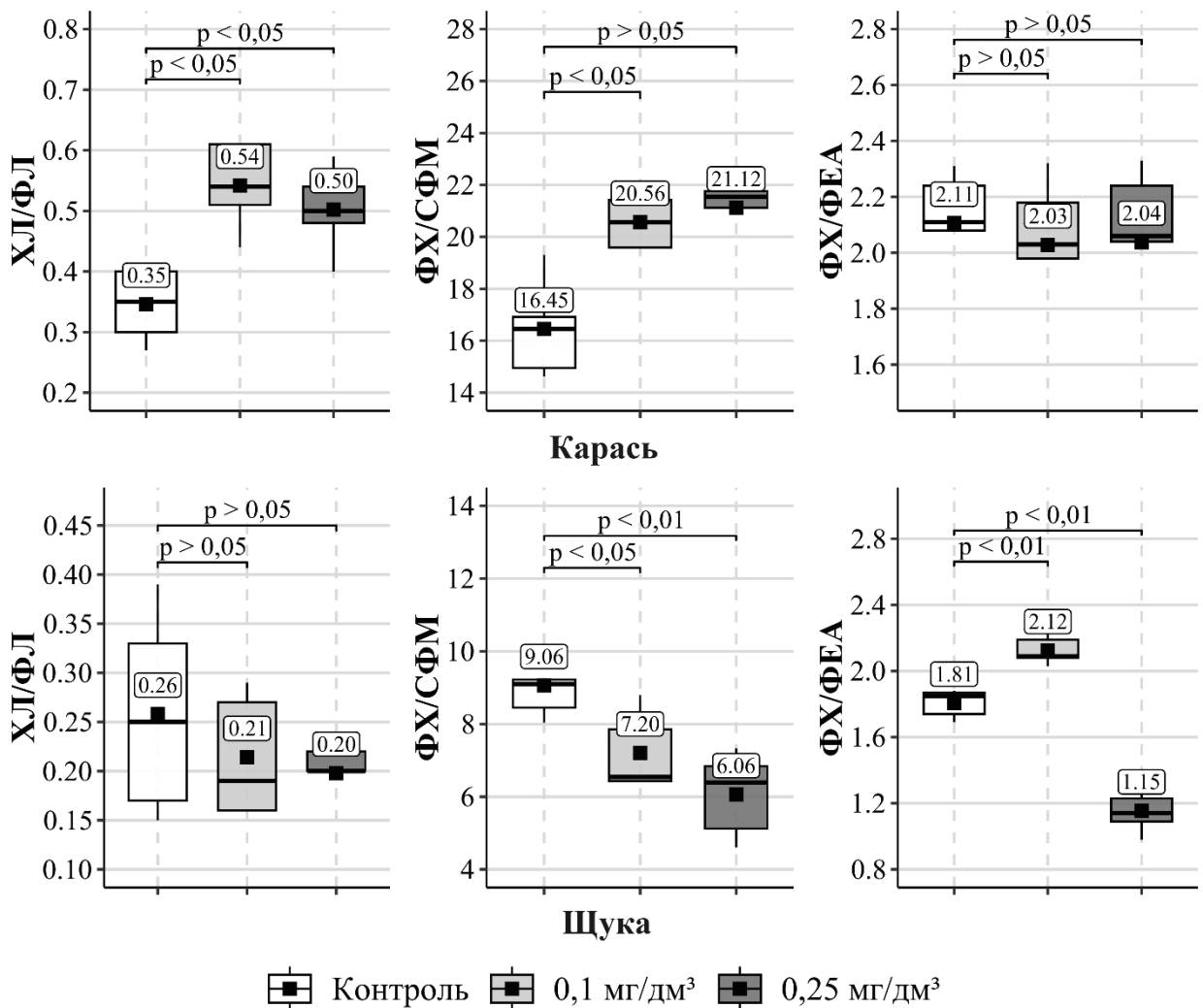


Рис. 6.4. Співвідношення фракцій ліпідів у печінці риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Згідно з літературними даними, зростання цього співвідношення зумовлює зниження плинності плазматичної мембрани (Pöhl et al., 2023), зменшення її проникності для іонів металів (Gulik-Krzywicki et al., 1975) та модуляцію активності мембранозв'язаних ферментів (Bastiaanse et al., 1997). Натомість у печінці щуки виявлено зниження співвідношення XЛ/ФЛ на 12,5 % і 16,7 % за дії обох досліджуваних концентрацій металу, що, відповідно, вказує на збільшення текучості біомембран та регулятивної активності фосфоліпідів у їх складі (Somharju et al., 1999).

Аналіз фосфоліпідного складу печінки риб засвідчив видоспецифічний характер адаптивних перебудов. Зокрема, у гепатоцитах карася зафіксовано виражену тенденцію до зростання показника ФХ/СФМ за обох досліджуваних

концентрацій іонів кобальту у воді. Натомість у щуки вплив металу індукував дозозалежне зниження співвідношення ФХ/СФМ на 20,5 % та 33,1 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> та 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup> відповідно. Водночас зміни індексу ФХ/ФЕА у цього виду мала двофазний характер, оскільки впливу дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у воді спостерігалось зростання на 17,4 % тоді як за максимальної дії досліджуваного металу виявлено різке падіння на 36,3 %.

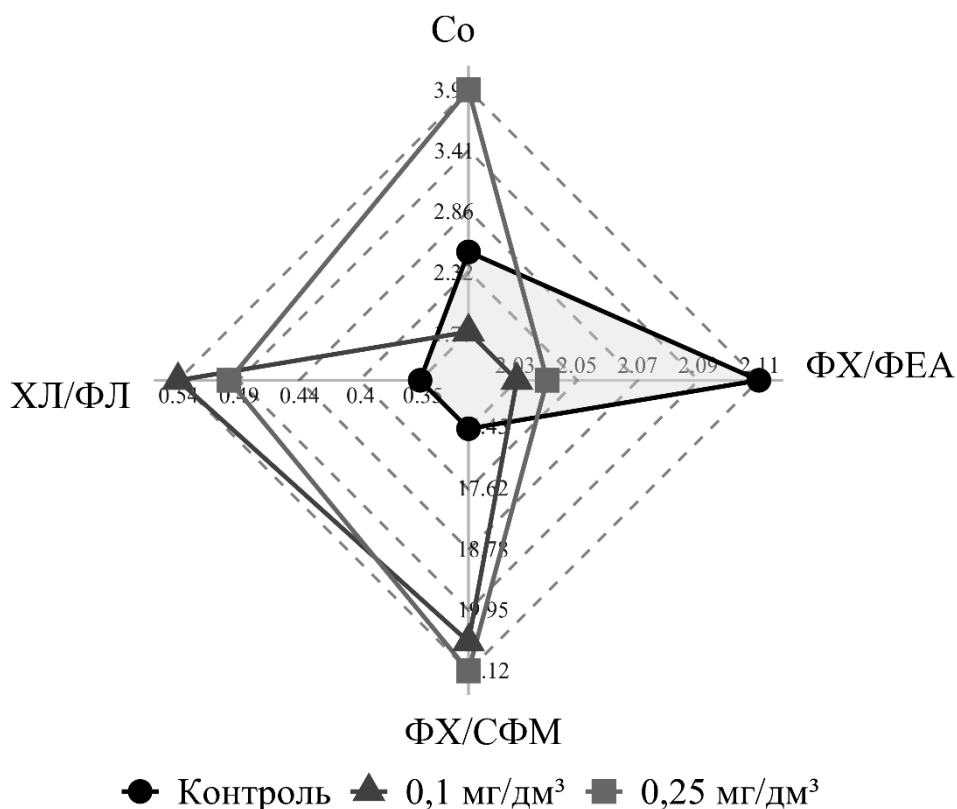


Рис. 6.5. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у печінці карася за дії іонів Co<sup>2+</sup> у воді (n = 5).

Як засвідчили також результати попередніх досліджень авторів (Dawaliby et al., 2015), накопичення ФЕА та відповідне зменшення індексу ФХ/ФЕА супроводжується зростанням в'язкості біомембран. Оскільки співвідношення ФХ/ФЕА є важливим модулятором цілісності ліпідного матриксу, його зменшення може індукувати пошкодження клітин печінки (Li et al., 2006). Відповідно, виявлені зміни індексу ФХ/СФМ у тканинах печінки щуки слугують додатковим індикатором зниження плинності біологічних мембран (Fajardo et al., 2011).

Спільною рисою для печінки обох видів риб є виражена перебудова індексів плинності у відповідь на акумуляцію металу, проте вектори цієї адаптації є кардинально відмінними. Відповідно до радарних діаграм печінка карася реагує на інтоксикацію значним підвищенням жорсткості мембран (зростання ХЛ/ФЛ), що супроводжується успішною та стабільною мобілізацією плинності за рахунок зростання ФХ/СФМ (Рис. 6.5).

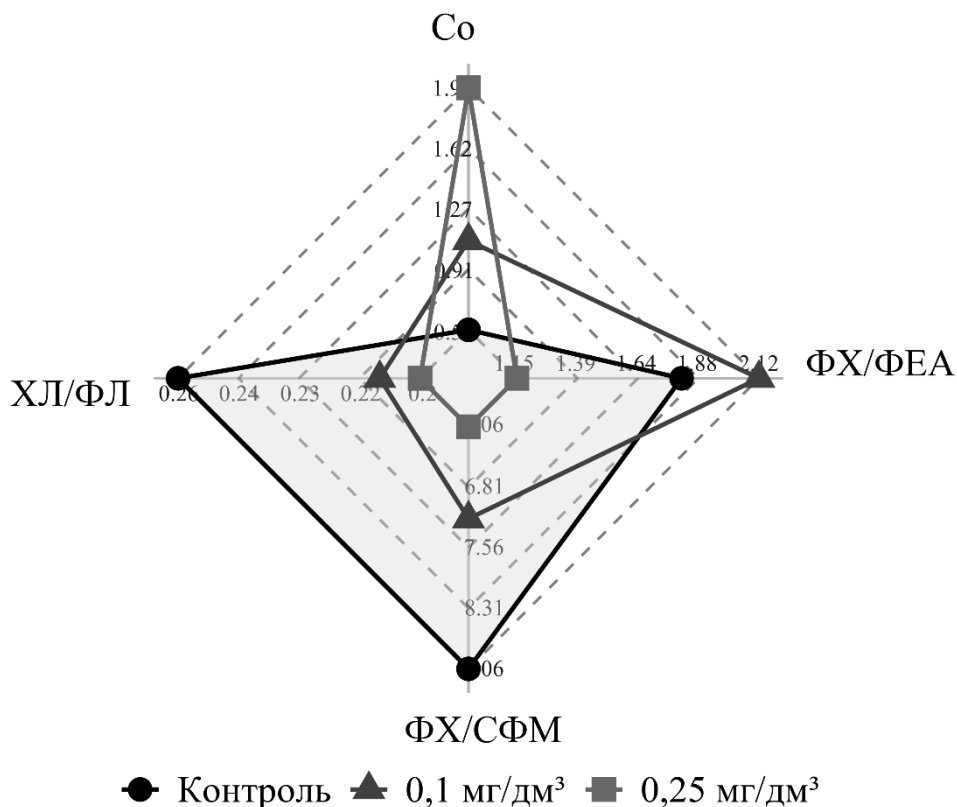


Рис. 6.6. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у печінці шуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Печінка шуки, навпаки, не демонструє достовірних змін співвідношення ХЛ/ФЛ стабільний, але її мембрани стрімко втрачають плинність, на що вказує дозозалежне зниження індексів ФХ/СФМ та ФХ/ФЕА (Рис. 6.6). Це вказує на те, що мембрани печінки карася краще адаптуються до токсичного стресу шляхом балансування ліпідних фракцій, тоді як у шуки настає виснаження компенсаторних механізмів та деградація плинності мембран.

Відзначено, що за ідентичного характеру накопичення іонів кобальту в м'язах обох видів риби реакція мембранних структур на вплив токсиканта є видоспецифічною.

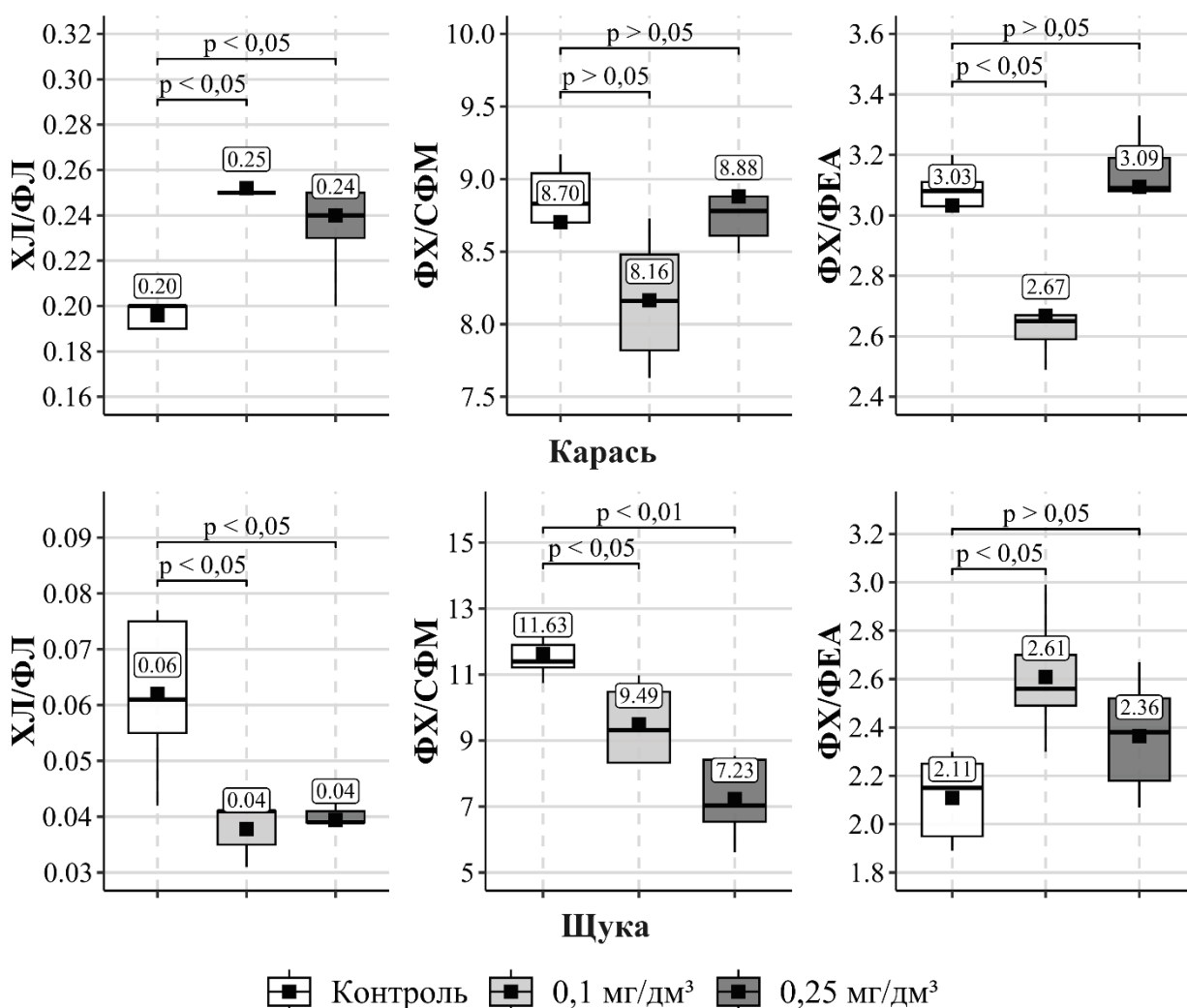


Рис. 6.7. Співвідношення фракцій ліпідів у м'язах риби за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Зокрема у м'язовій тканині карася спостерігається нетипова, але статистично вірогідна перебудова біомембран, що супроводжується підвищенням співвідношення XЛ/ФЛ на 31,6 % і 26,3 % за 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup> концентрацій  $\text{Co}^{2+}$  відповідно (Рис. 6.7). Натомість у щуки виявлено зниження цього показника на 33,3 % за впливу обох концентрацій металу у воді. Аналіз співвідношення фракцій фосfolіпідів засвідчив достовірне дозозалежне зниження індексу ФХ/СФМ на 18,4 % і 37,9 % за дії 0,1 мг/дм<sup>3</sup> і 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту лише у м'язах щуки. Зміни співвідношення

ФХ/ФЕА у риб зафіксована лише за впливу  $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$  і мала виражений видоспецифічний характер. Зокрема в організмі карася цей показник знизився на 12,0 %, тоді як у щуки, навпаки, зріс на 23,6 %.

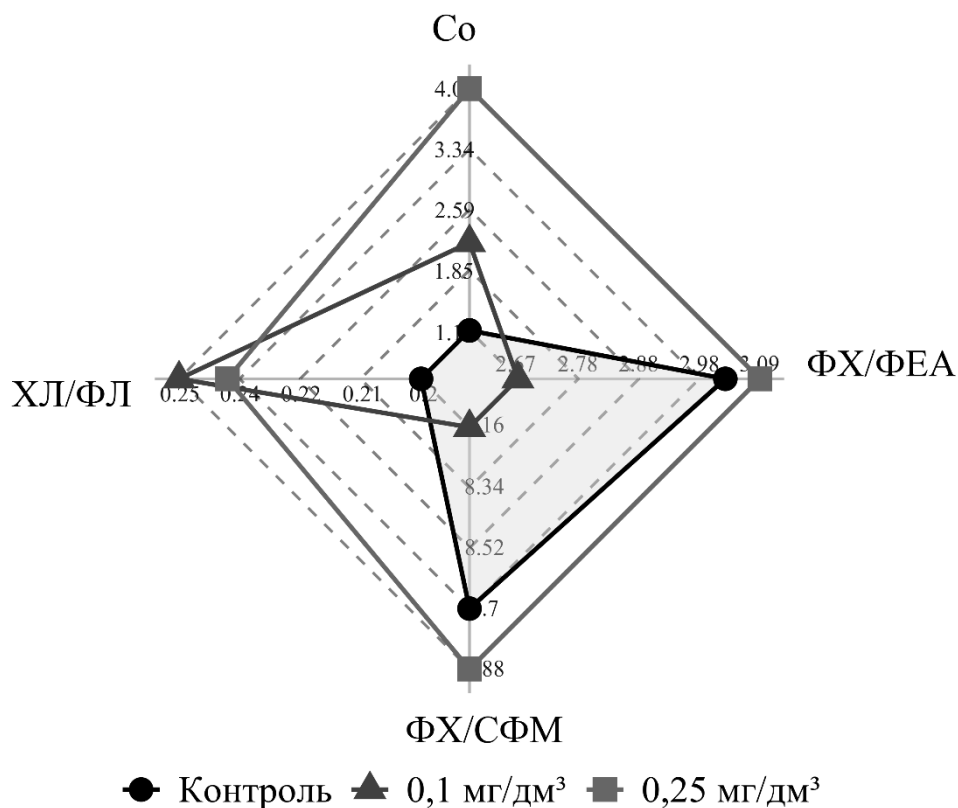


Рис. 6.8. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у м'язах карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Ступінь акумуляції кобальту у м'язовій тканині виступає прямим чинником для структурного ремоделювання мембран, проте аналіз співвідношень ліпідів вказує на відсутність універсальної відповіді. Радарна діаграма демонструє компенсаторну реакцію у м'язах карася у відповідь на токсичний стрес, що проявляється у підвищенні індексу ХЛ/ФЛ, що свідчить про підвищення в'язкості ліпідного бішару (Рис. 6.8).

У м'язовій тканині щуки зі збільшенням акумуляції кобальту зниження співвідношення ХЛ/ФЛ вказує на збільшення текучості клітинних мембран. Така перебудова ліпідного профілю є компенсаторним механізмом, що спрямований на збереження бар'єрної функції ліпідного бішару та

підтримання належної конформації мембранозв'язаних ферментів в умовах токсичного стресу (Javed & Usmani, 2015)

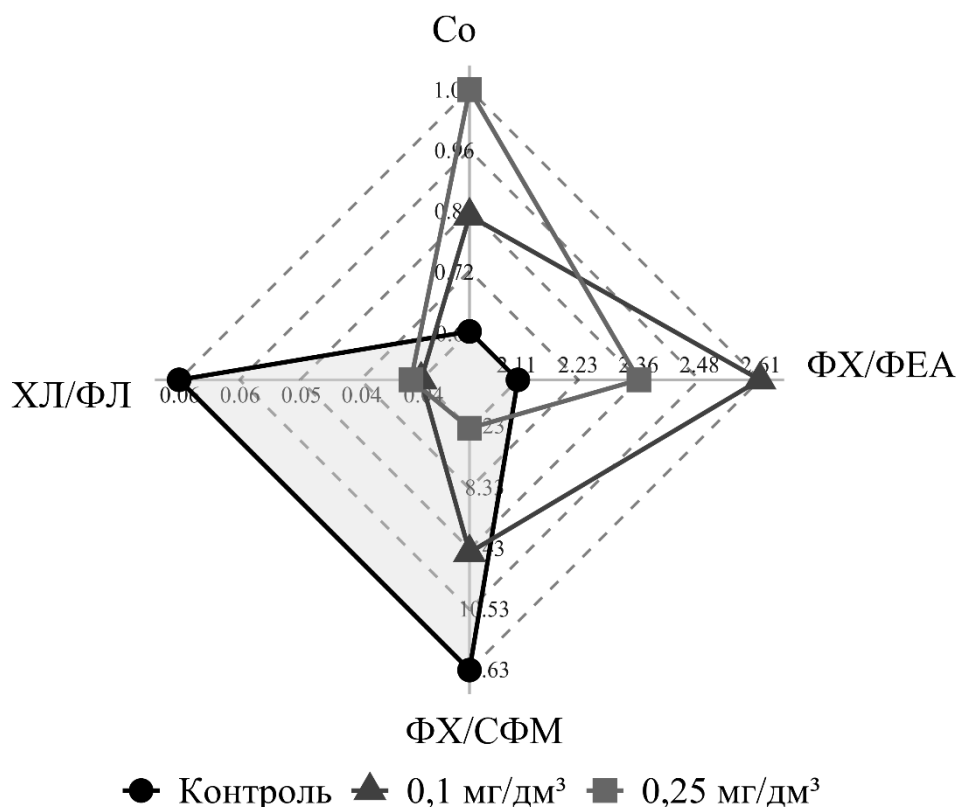


Рис. 6.9. Залежність співвідношень фракцій ліпідів від вмісту акумулюваного металу у м'язах щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Важливими біоіндикаторами змін навколишнього середовища та показниками харчової цінності м'язів риб є індекси співвідношення жирних кислот (Chen & Liu, 2020). Встановлено, що за умов максимальної акумуляції іонів кобальту в м'язовій тканині карася співвідношення ПНЖК/НЖК зростає на 32,5 %. Такий зсув ліпідного балансу в бік підвищеної ненасиченості розглядається як адаптивна компенсаторна реакція, спрямована на збереження флюїдності біомембран та модуляцію сигнальних шляхів клітинного стресу. Ця структурна перебудова забезпечує оптимізацію динамічних властивостей мембран, нівелювання наслідків оксидативного пошкодження та реорганізацію пулу ліпідних медіаторів, що в комплексі підвищує резистентність організму до токсичного навантаження (Chetoui et al., 2025; Fadhlaoui & Couture, 2016). Проте в науковій літературі існують і протилежні

дані, згідно з якими ініційоване металами пероксидне окиснення ліпідів призводить до деструкції подвійних зв'язків поліненасичених жирних кислот, що закономірно супроводжується виснаженням пулу ПНЖК у м'язах гідробіонтів (Jovičić et al., 2024; Kovacik et al., 2025; Mahboob et al., 2019).

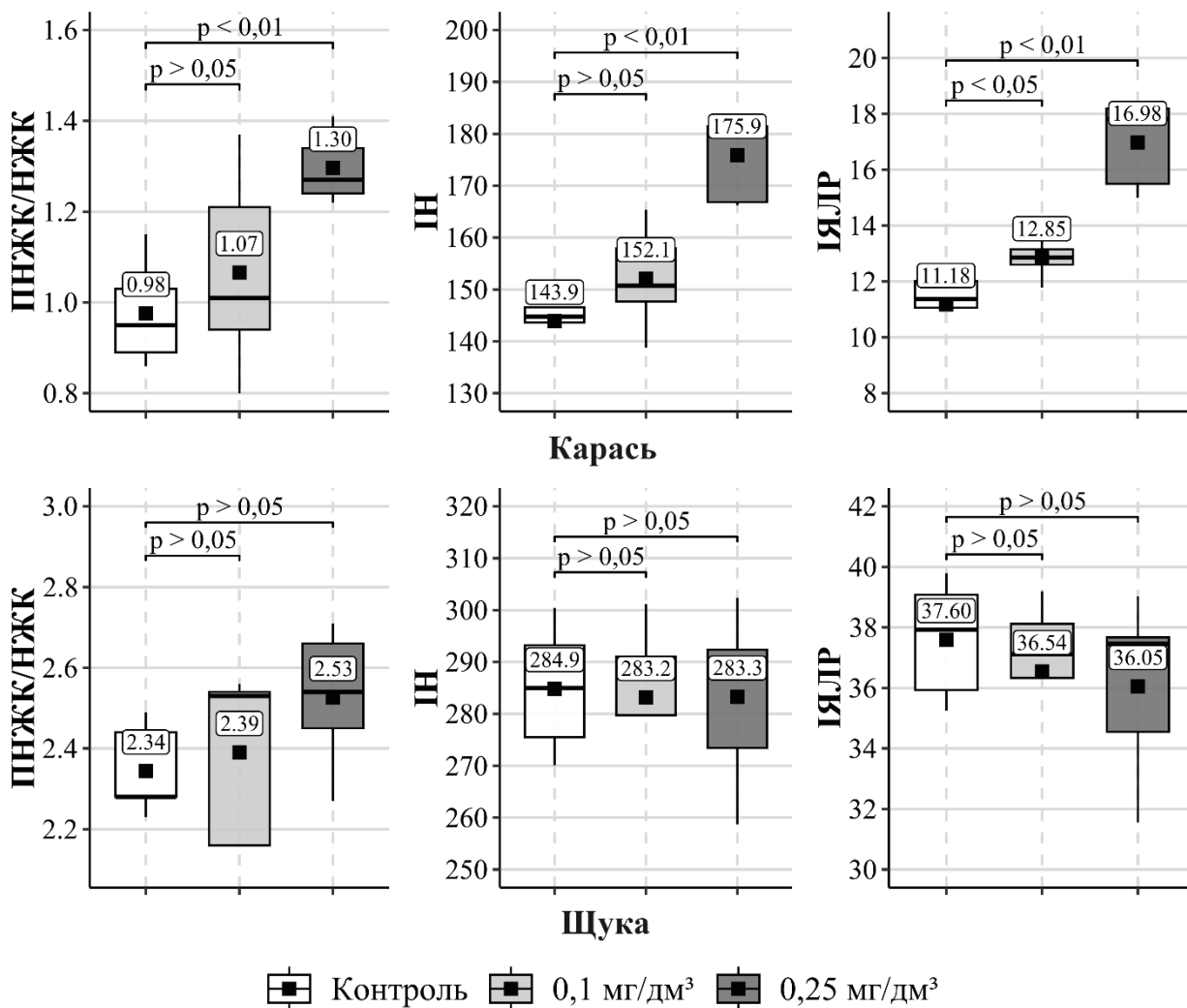


Рис. 6.10. Індеси співвідношення жирних кислот у м'язах риб за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ ).

Важливим компонентом адаптаційної реакції організму карася є також достовірне зростання індексу ненасиченості на 22,2 % за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту. Ці зміни свідчать про інтенсифікацію процесів десатурації та суттєве підвищення загальної частки подвійних зв'язків у ліпідному пулі, що є критично необхідним для збереження функціональності клітинних мембран (Chen & Liu, 2020). Збільшення індексу якості ліпідів у м'язах карася на 15,0 % і 51,9 % за обох концентрацій іонів досліджуваного металу є нетиповим

результатом, оскільки кобальт у високій кількості зазвичай вважається токсичним для риб і може спричиняти порушення ліпідного обміну та погіршення фізіологічного стану, що, як правило, призводить до зниження, а не підвищення цього харчового індексу (Bejaoui et al., 2024; Kovacik et al., 2025; Łuczyńska et al., 2017).

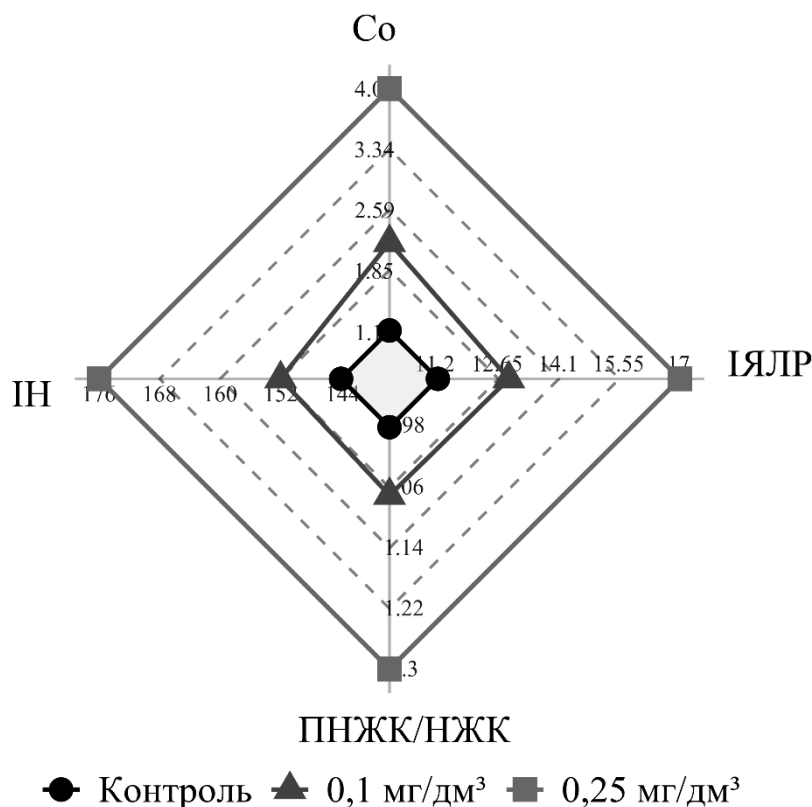


Рис. 6.11. Залежність індексів співвідношень жирних кислот від вмісту акумулюваного металу у м'язах карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Таким чином у м'язах карася спостерігається виражена і синхронна реакція складу жирних кислот на накопичення кобальту, тоді як у щуки проаналізовані індекси не показали вірогідних змін. Порівняння реакцій м'язової тканини карася та щуки виявляє кардинальні відмінності в їхніх адаптивних стратегіях (Рис. 6.11, 6.12). Щука має значно вищі базові показники ненасиченості (IИ у контролі  $\sim 285$  проти  $\sim 144$  у карася), але її ліпідний профіль виявляється ригідним і не реагує на токсичний вплив кобальту. Карась, навпаки, маючи нижчі початкові значення, демонструє компенсаторну реакцію, що полягає у збільшенні частки поліненасичених

жирних кислот та значень ІН, ПНЖК/НЖК, ІЯЛР, намагаючись зберегти необхідні фізико-хімічні властивості мембран (Ghribi et al., 2018, Werner et al., 2021).

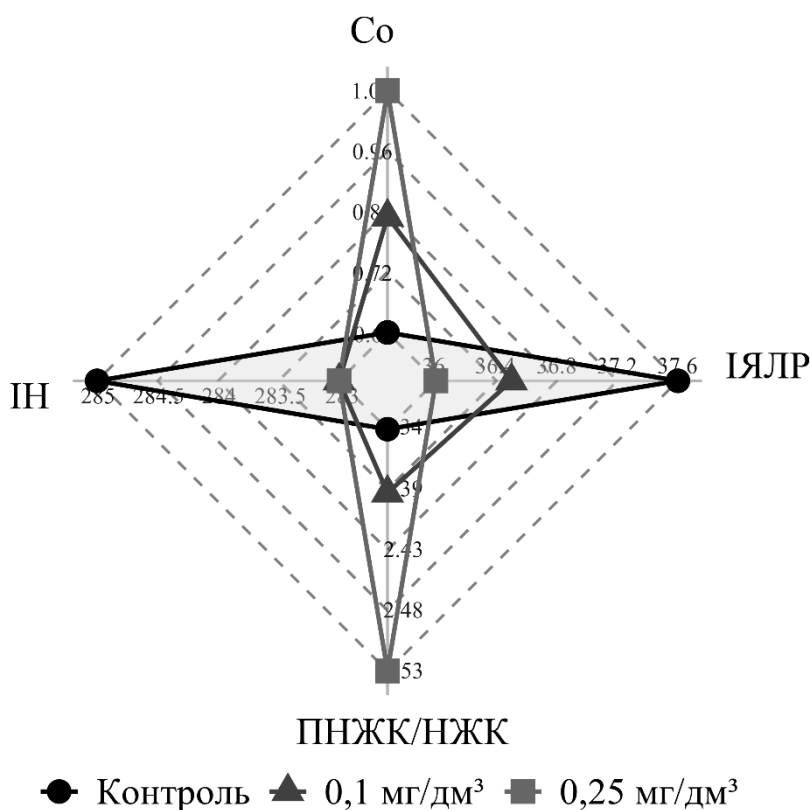


Рис. 6.12. Залежність індексів співвідношень жирних кислот від вмісту акумулюваного металу у м'язах щуки за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді ( $n = 5$ ).

Таким чином, м'язи бентофага здатні до глибокого ремоделювання жирнокислотного складу для протидії інтоксикації, тоді як хижак покладається виключно на свій високий, але незмінний базовий резерв.

### 6.3. Акумулювання кобальту як чинник токсичності в організмі риб

Процес біоаккумуляції важких металів, зокрема іонів кобальту, є первинним чинником ініціації інтоксикаційних процесів у водних організмів. Накопичення токсиканта у тканинах риб не лише відображає ступінь екологічного навантаження, але й запускає складний каскад біохімічних реакцій, що призводять до структурно-функціональної модифікації клітинних мембран та виснаження компенсаторних систем організму (Almashhadany et al., 2024; Ekiz & Karabulut, 2026).

Оскільки зябра відіграють провідну роль у процесах газообміну, осморегуляції та первинної взаємодії з токсикантом, саме вони виступають головним індикатором ранніх токсичних ефектів (Macirella & Brunelli, 2017). З метою формування цілісної картини адаптивної відповіді та токсикологічного стресу у досліджуваних видів карася і щуки у цьому розділі було систематизовано отримані результати. У таблиці 6.1 узагальнено характер векторних змін (зростання, зниження або відсутність достовірних коливань) щодо рівня накопичення металу, динаміки структурних компонентів ліпідного матриксу та показників системи антиоксидантного захисту в зябрах за умов експозиції у середовищі з різними концентраціями іонів кобальту.

Таблиця 6.1

Характеристика змін показників вмісту металу, ліпідного складу, стану антиоксидантної системи зябер карася та щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді

Серія	Co	ЗВЛ	ТАГ	НЕЖК	ДАГ	ХЛ	МАГ	ФЛ	ХЛ/ФЛ	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФС	ФІ	ФЕА	ФХ/СФМ	ФХ/ФЕА	ТАС	GST	GSH	ПОЛ
<b>Карась</b>																					
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↔	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↑	↓	↔	↓	↑	↔	↔	↔	↑	↑	↔	↔	↔	↔
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↔	↔	↔	↑	↔	↓	↔	↔	↓	↔	↓	↑	↔	↔	↔	↑	↑	↔	↑	↑	↔
<b>Щука</b>																					
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↔	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↑	↓	↔	↔	↑	↓	↑	↓	↔	↑	↑	↑	↓	↑
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↓	↓	↔	↑	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↔	↑	↑	↑	↑	↓	↔

Примітки тут і далі: ↑ - достовірне зростання; ↓ - достовірне зниження; ↔ - відсутність достовірних змін.

Як свідчать узагальнені дані, реакція тканин зябер на токсичний вплив іонів кобальту має яскраво виражений видоспецифічний та дозозалежний характер. Для карася відмічається відносна стабільність більшості досліджуваних біомаркерів (переважають показники без достовірних змін), що вказує на високу резистентність цього виду, тоді як адаптивна відповідь

обмежується здебільшого точковими модифікаціями ліпідного складу. Натомість в організмі щуки спостерігається глибші зміни біохімічного гомеостазу. Вплив  $0,1 \text{ мг/дм}^3 \text{ Co}^{2+}$  у воді викликає початкову активацію захисних систем, а збільшення концентрації до  $0,25 \text{ мг/дм}^3$  індукує масові різноспрямовані зрушення практично у всіх досліджуваних пулах – від інтенсифікації накопичення металу до тотальної перебудови ліпідного матриксу та розвитку оксидативного стресу.

Представлені графіки (Рис.6.13-6.20) є кореляційною матрицею (корелограмою), яка відображає парні лінійні зв'язки між біохімічними, ліпідними показниками та маркерами оксидативного стресу в печінці карася. Коефіцієнт кореляції Пірсона ( $r$ ) візуалізовано еліпсами, де інтенсивність кольору та нахил відображають силу і напрямок зв'язку.

Виявлено прямий кореляційний зв'язок середньої сили між вмістом кобальту та рівнем загального глутатіону у зябрах карася (Рис. 6.13). Це може свідчити про компенсаторну активацію антиоксидантної системи зябер (а саме її тіолової ланки) у відповідь на накопичення важкого металу. Зворотний зв'язок середньої сили з лізофосфатидилхоліном вказує на те, що підвищення вмісту кобальту супроводжується зниженням рівня цієї фракції ФЛ, що може бути пов'язано зі зміною активності фосфоліпаз (Farmer et al., 2015; Yaginuma et al., 2023).

Спостерігається сильний зворотний зв'язок між вмістом ТАГ та НЕЖК ( $r = -0,81$ ). Біологічно це чітко відображає процес ліполізу, оскільки розщеплення резервних ТАГ призводить до вивільнення неестерифікованих жирних кислот, необхідних для енергетичного забезпечення тканин в умовах стресу або адаптації (Yang & Mottillo, 2020). Також виявлено негативну кореляцію між ДАГ та загальною антиоксидантною активністю.

Найбільший масив значущих кореляцій зосереджений у блоці фосфоліпідів, що вказує на посилення реорганізації ліпідного бішару. Помірний зворотний зв'язок свідчить про реципрокні зміни головних структурних компонентів мембрани – холестеролу та загальних фосфоліпідів.

Співвідношення ХЛ/ФЛ закономірно має сильний прямий зв'язок з ХЛ ( $r = 0,90$ ) та сильний зворотний із ФЛ ( $r = -0,85$ ). Прямий зв'язок вказує на спільне накопичення холестеролу та сфінгомієліну, що є класичною ознакою формування ліпідних рафтів (мікродоменів) у мембранах, які роблять їх більш жорсткими (Dahley et al, 2022; Giraldo-Lorza et al., 2024; Marques-da-Silva & Lagoa, 2023). Це підтверджується також кореляцією ХЛ/ФЛ із СФМ.

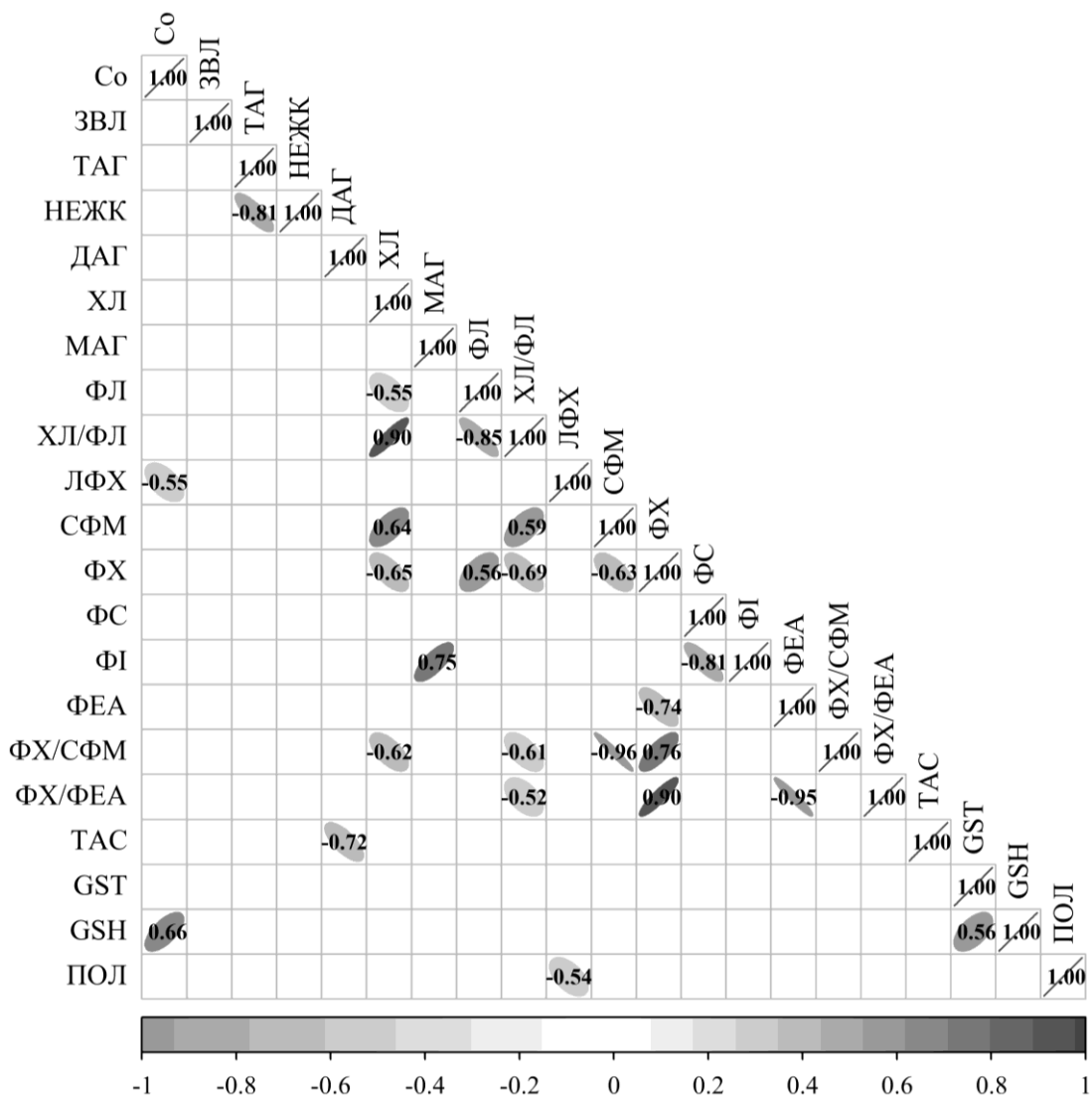


Рис. 6.13. Кореляційна матриця показників вмісту металу, ліпідного складу, стану антиоксидантної системи зябер карася за дії іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Зміни ФХ демонструють виражені зворотні зв'язки з іншими фракціями ліпідів, зокрема ХЛ ( $r = -0,65$ ), СФМ ( $r = -0,63$ ) та ФЕА ( $r = -0,74$ ). Одночасно він позитивно корелює із загальними ФЛ ( $r = 0,56$ ). Це вказує на те, що зміна

рівня основного мембранного фосфоліпиду (ФХ) супроводжується компенсаторними перебудовами мінорних фракцій для підтримання стабільності бішару. Окрім того збільшення частки цього ФЛ пов'язане з активацією його синтезу із ФЕА за участі метилтрансфераз (Хоменчук та ін., 2020; Sun et al., 2023). Співвідношення ФХ/СФМ та ФХ/ФЕА, які відображають баланс між структурними фосфоліпідами, мають закономірні зв'язки зі своїми складовими, зокрема ФХ/СФМ та СФМ ( $r = -0,96$ ), ФХ/ФЕА та ФЕА ( $r = -0,95$ ).

Пряма кореляція між ферментативною активністю глутатіон-S-трансферази та її субстратом (глутатіоном) вказує на синхронну роботу системи глутатіону в процесах детоксикації (Chełchowska et al., 2025; Wu et al., 2022). Таким чином основний акцент адаптивних реакцій у зябрах карася зміщений на ремоделювання ліпідного матриксу клітинних мембран, активізацію процесів ліполізу та мобілізацію антиоксидантної системи глутатіону у відповідь на акумуляцію кобальту.

У той час вплив металу на зябра шуки має значно більший каскад кореляційних зв'язків (Рис. 6.14). Збільшення вмісту кобальту супроводжується різким виснаженням загального пулу ліпідів, насамперед за рахунок резервних триацилгліцеролів. Це свідчить про інтенсивне використання енергетичних резервів для забезпечення адаптаційних процесів або детоксикації (Грициняк та ін., 2010). Вміст досліджуваного металу також супроводжується значним накопиченням ФХ та одночасним зниженням рівня ЛФХ, ФС і СФМ. Оскільки ЛФХ є продуктом катаболізму структурних ФЛ, зниження його вмісту за дії підвищених концентрації  $\text{Co}^{2+}$  може свідчити про гальмування процесів ліпідної деградації або інгібування відповідних сигнальних каскадів під час формування адаптивної реакції (Yaginuma et al., 2023). Зменшення пулу СФМ у тканинах зябер, ймовірно, зумовлене блокуванням шляхів його біосинтезу, ключовим каталізатором якого є сфінгомелінсинтаза, що забезпечує перенесення фосфохолінової групи з ФХ на керамід. Ця гіпотеза цілком узгоджується з наявними літературними

даними, які демонструють аналогічне пригнічення активності цього ферменту та зниження вмісту СФМ під токсичним впливом іонів  $Zn^{2+}$  та  $Mn^{2+}$  (Ahmad et al 2024; Murakami et al., 2024; Suzuki et al, 2023).

Прямий кореляційний зв'язок очікувано підтверджує, що зміни загального вмісту ліпідів у зябрах щуки значною мірою визначається змінами рівня енергетичного пулу ТАГ. Від'ємна кореляція між резервними ТАГ та структурними ФЛ вказує на метаболічний зсув, зокрема за умов зниження запасів ТАГ клітини можуть використовувати або перебудовувати структурні ФЛ для підтримки гомеостазу (Wang et al., 2024).

Як і у випадку із карасем найвищі коефіцієнти кореляції демонструють фракції структурних ліпідів. Зокрема показано значний взаємний зв'язок між вмістом ХЛ та ФЛ. Співвідношення ХЛ/ФЛ має майже абсолютну пряму кореляцію із ХЛ ( $r = 0,96$ ) та абсолютно зворотну із ФЛ ( $-0,94$ ). Зміни текучості клітинних мембран значною мірою детерміновані цим балансом (Javed & Usmani, 2015; Somerharju et al., 1999). Збільшення частки структурного ФХ пов'язане зі зменшенням ФС, який відіграє важливу роль у апоптозі та клітинному сигналюванні (Birge et al., 2016; Kay & Grinstein, 2013). Співвідношення ФХ/СФМ, що відображає баланс ліпідів «рідкого» та «жорсткого» типу, має надзвичайно сильний зворотний кореляційний зв'язок безпосередньо із самим СФМ ( $r = -0,94$ ) та прямий із ФХ ( $r = 0,83$ ).

Виявлено майже функціональну ( $r = 0,96$ ) пряму кореляційну залежність між загальною антиоксидантною активністю та активністю глутатіон-S-трансферази. Це переконливо доводить, що у зябрах щуки активність цього ферменту є визначальним чинником формування загального антиоксидантного потенціалу тканини (Awed et al., 2020).

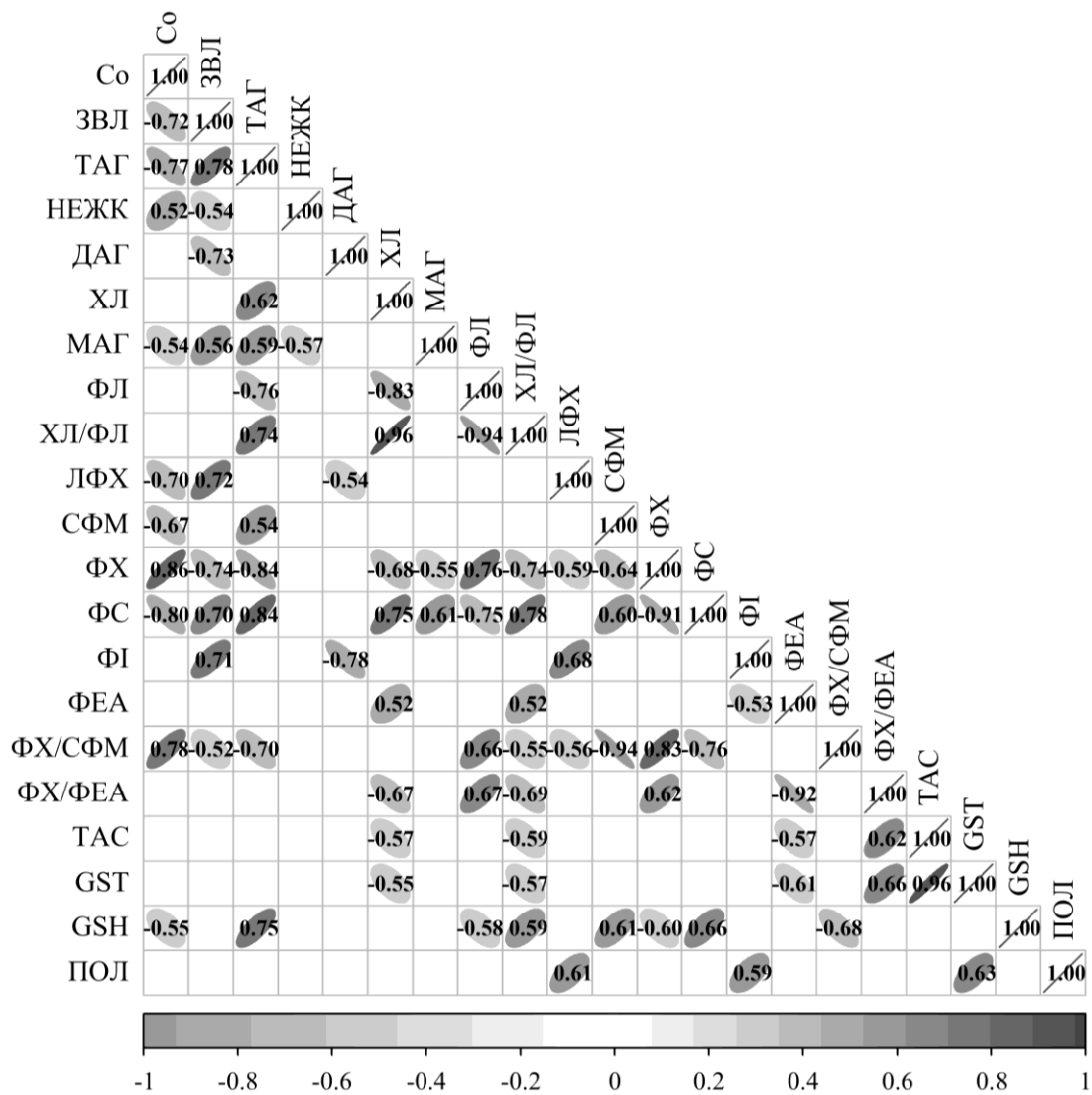


Рис. 6.14. Кореляційна матриця показників ліпідного складу і стану антиоксидантної системи зябер щуки за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Встановлено прямі кореляційні зв'язки між рівнем ПОЛ та збільшенням вмісту ЛФХ та ФС. Зростання продуктів пероксидного окиснення ліпідів також супроводжується синхронною активацією ферменту детоксикації другої фази метаболізму (глутатіон-S-трансферази), що є компенсаторною реакцією клітин на стрес (Araujo et al., 2022; Abdel-Aziz et al., 2022).

Кореляційна структура показників у зябрах щуки відображає стан метаболічного стресу. Накопичення кобальту виступає значним чинником, який призводить до виснаження енергетичних депо, масштабної структурної перебудови клітинних мембран та мобілізації ферментативної ланки

антиоксидантної системи, яка намагається компенсувати пошкодження в умовах виснаження пулу глутатіону.

Таблиця 6.2

Характеристика змін показників вмісту металу, ліпідного складу, стану антиоксидантної системи печінки карася та щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді

Серія	Со	ЗВЛ	ТАГ	НЕЖК	ДАГ	ХЛ	МАГ	ФЛ	ХЛ/ФЛ	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФС	ФІ	ФЕА	ФХ/СФМ	ФХ/ФЕА	ТАС	САТ	GST	GSH	ПОЛ
<b>Карась</b>																						
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↓	↑	↓	↔	↔	↑	↑	↓	↑	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↑	↔	↑	↔	↔	↑	↓
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↑	↔	↔	↔	↑	↔	↓	↑	↑	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↑	↓
<b>Щука</b>																						
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↑	↑	↓	↓	↑	↑	↑	↔	↓	↑
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↔	↓	↑	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↑	↓	↓	↔	↑	↓	↓	↔	↑	↔	↓	↔

Відповідно до таблиці 6.2 у печінці карася у відповідь на кобальтову інтоксикацію розгортається інтенсивна метаболічна відповідь, спрямована на активну протидію стресу. Вона характеризується масивним накопиченням енергетичних ліпідів та глибокою перебудовою ліпідного бішару в бік ущільнення мембран. Хоча орган і зазнає оксидативного ураження з виснаженням пулу низькомолекулярних тіолів, печінка карася здатна до мобілізації ферментативної ланки антиоксидантного захисту, що дозволяє стримувати критичну деструкцію клітин.

Натомість реакція печінки щуки має виражений патологічний характер і свідчить про швидкий зрив адаптаційних механізмів. Замість накопичення захисних резервів спостерігається їх стрімке енергетичне виснаження разом із деградацією структурних компонентів мембран. Пригнічення систем антиоксидантного захисту у хижака призводить до безконтрольного, високоінтенсивного розвитку пероксидного окиснення ліпідів. Таким чином, якщо стратегія карася полягає в активному метаболічному опорі, то щука

демонструє глибоку структурно-енергетичну кризу та втрату функціональності органу детоксикації.

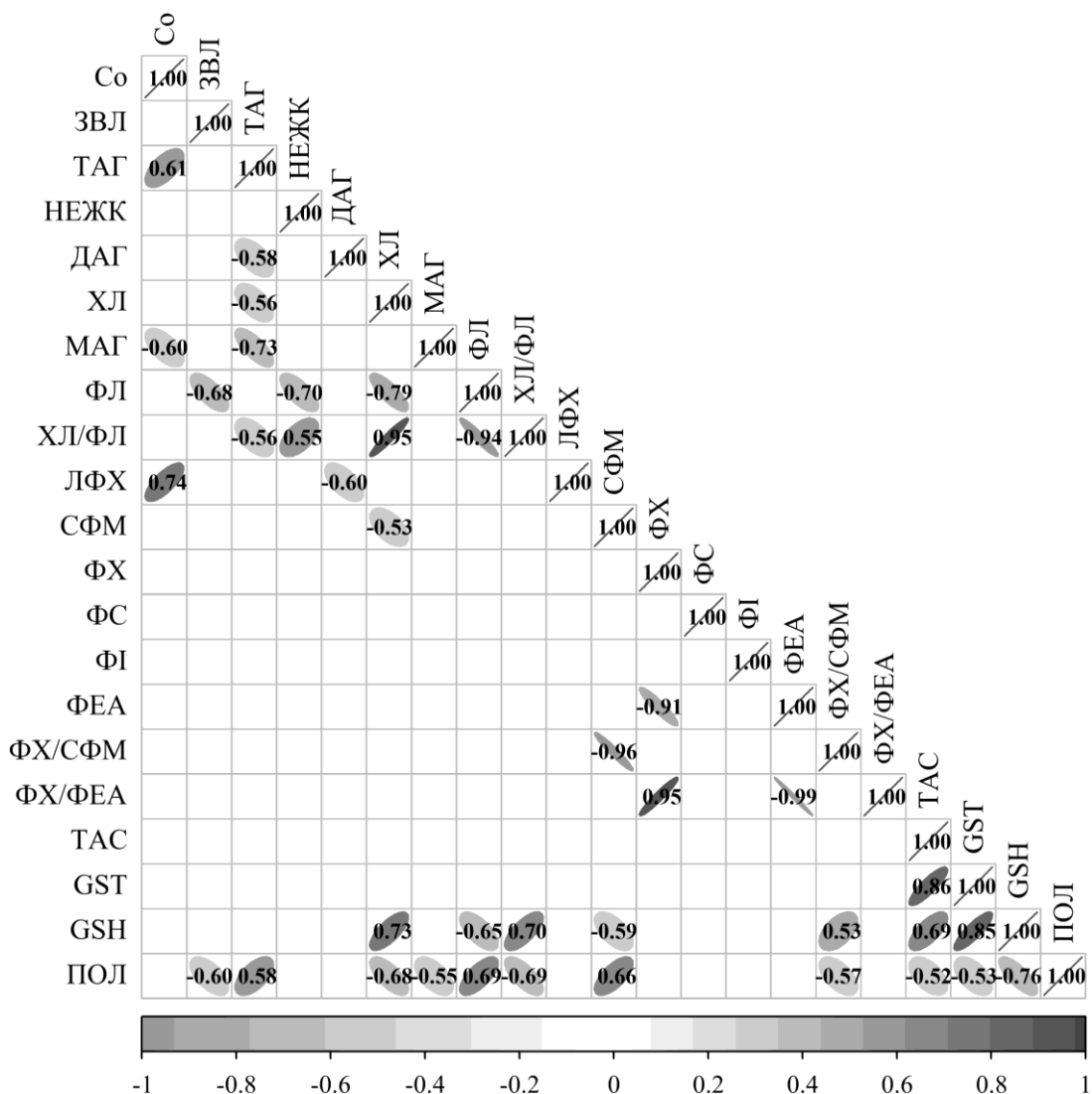


Рис. 6.15. Кореляційна матриця показників ліпідного складу і стану антиоксидантної системи печінки карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Печінка є головним органом метаболізму та детоксикації, тому картина кореляцій тут має свої специфічні особливості порівняно із зябрами. Накопичення кобальту асоціюється зі значним зростанням рівня ЛФХ, який є продуктом деградації мембранних фосфоліпідів під дією фосфоліпаз, що свідчить про інтенсивне пошкодження клітинних мембран гепатоцитів (Yaginuma et al., 2023). Виявлено значні від'ємні кореляційні зв'язки між вмістом ТАГ і ДАГ, ( $r = -0,58$ ), ТАГ і МАГ, ( $r = -0,73$ ). Такі зміни є класичним

відображенням інтенсифікації процесів ліполізу: активне розщеплення (зменшення пулу) резервних ТАГ закономірно супроводжується накопиченням проміжних метаболітів їх деградації (Qiu et al., 2017). Виявлена від'ємна кореляція між частками НЕЖК та ФЛ вказує на зсув ліпідного обміну в бік деградації мембранних структур. Такі зміни підтверджують, що зростання рівня неестерифікованих жирних кислот у тканинах печінки значною мірою забезпечується інтенсифікацією фосфоліпазного розщеплення структурних фосфоліпідів (Khan & Piles, 2023; Wang & Tontonoz, 2019).

Співвідношення ХЛ/ФЛ закономірно має майже функціональний прямий зв'язок з ХЛ ( $r = 0,95$ ) та зворотний із ФЛ ( $r = -0,94$ ). Також виявлено значну зворотну кореляцію між частками основних структурних фосфоліпідів: ФХ і ФЕА. Зміна їх співвідношення є одним із ключових механізмів регуляції плинності мембран гепатоцитів, що також підтверджується абсолютними кореляціями коефіцієнта ФХ/ФЕА з його складовими (Grapentine & Bakovic, 2019; Peng et al., 2021).

Встановлено низку прямих кореляційних зв'язків стану антиоксидантної системи: загальна антиоксидантна активність і активність глутатіон-S-трансферази ( $r = 0,86$ ), активність глутатіон-S-трансферази та загальний вміст глутатіону ( $r = 0,85$ ), загальна антиоксидантна активність та загальний вміст глутатіону ( $r = 0,69$ ). Це свідчить про те, що загальна антиоксидантна активність печінки карася залежить від узгодженої роботи системи глутатіону. Продукти пероксидного окиснення ліпідів закономірно мають зворотні кореляції з усіма компонентами антиоксидантного захисту, у той час як спостерігається прямий зв'язок ПОЛ із вмістом ФЛ та СФМ. Також виявлено від'ємну кореляцію ПОЛ та співвідношення ХЛ/ФЛ ( $r = -0,69$ ) і ПОЛ та ХЛ ( $r = -0,68$ ), що може свідчити про ущільнення клітинних мембран печінки карася. Зниження плинності біомембран робить їх менш проникними та частково захищає ФЛ від атаки активних форм кисню, знижуючи інтенсивність ПОЛ (Goicoechea et al., 2023; Husak et al., 2016).

У печінці щуки акумуляція кобальту викликає стресову реакцію, що характеризується масивним розщепленням ліпідів та перебудовами клітинних мембран (Рис. 6.16).

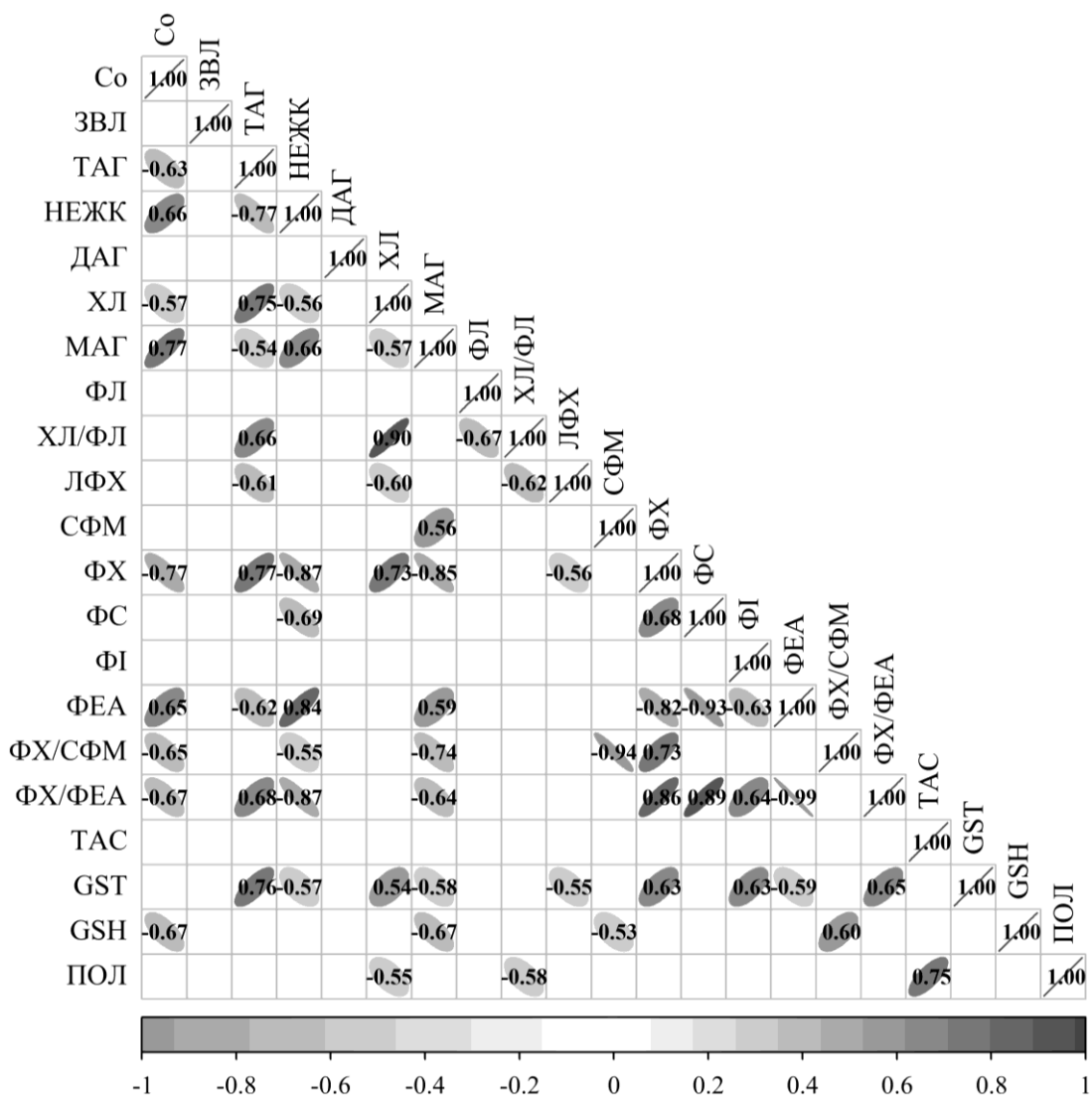


Рис. 6.16. Кореляційна матриця показників ліпідного складу і стану антиоксидантної системи печінки щуки за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Встановлено зворотну кореляцію накопичення кобальту у тканині та змінами пулу ТАГ, що призводить до зниження кількості резервних ліпідів. У той час спостерігається пряма кореляція акумуляції досліджуваного металу з МАГ та НЕЖК, а також зворотна між ТАГ та НЕЖК, що у поєднанні із попереднім твердженням є яскравим свідченням інтенсивної активації ліполізу. Токсична дія  $Co^{2+}$  обумовлює активне розщеплення жирів у печінці

для отримання енергії. Цікаво, що рівень НЕЖК має значні кореляційні зв'язки зі структурними компонентами мембран: зворотний із ФХ ( $r = -0,87$ ) та прямий із ФЕА ( $r = 0,84$ ). Це може свідчити про те, що масивне вивільнення неестерифікованих жирних кислот безпосередньо впливає на фізико-хімічні властивості мембран гепатоцитів або що процеси деградації мембран також роблять свій внесок у загальний пул НЕЖК (Khan & Ilies, 2023; Wang & Tontonoz, 2019).

Спостерігається різноспрямований вплив досліджуваного металу на окремі фракції ФЛ. Зростання рівня кобальту корелює зі зниженням ФХ ( $r = -0,77$ ) та ХЛ ( $r = -0,57$ ), але з одночасним накопиченням ФЕА ( $r = 0,65$ ). Зворотний кореляційний зв'язок вказує на виснаження загального вмісту глутатіону в процесі боротьби з інтоксикацією іонами кобальту.

Виявлені зворотні кореляції між ФХ і ФЕА ( $r = -0,82$ ), а також між ФС і ФЕА ( $r = -0,93$ ) є закономірним відображенням їхнього тісного метаболічного взаємоперетворення. Такі зміни зумовлені активним перебігом реакцій базового обміну полярних голівок (зокрема, серину на етаноламін чи холін) у ліпідному бішарі, коли в умовах токсичного стресу компенсаторне зростання пулу ФЕА відбувається за рахунок прямої біотрансформації та відповідного зниження або підвищення рівня ФС і ФХ (Хоменчук та ін., 2020; Tocher et al., 2008). Прямий кореляційний зв'язок свідчить про те, що частки ХЛ та ФХ накопичуються або витрачаються в печінці шуки синхронно, підтримуючи базову стабільність мембрани. Співвідношення ХЛ/ФЛ очікувано прямо корелює із ХЛ ( $r = 0,90$ ) та зворотно із ФЛ ( $r = -0,67$ ).

Виявлено прямий кореляційний зв'язок між загальною антиоксидантною активністю та продуктами ПОЛ як класичний приклад компенсаторної реакції у печінці, де посилення інтенсивності окисних процесів у тканині слугує чинником, який забезпечує мобілізацію антиоксидантного потенціалу (Kumar et al., 2021; Pavel et al., 2026). Активність глутатіон-S-трансферази має прямі зв'язки з частками ТАГ ( $r = 0,76$ ) та ФХ ( $r = 0,63$ ), і зворотні – з МАГ ( $r = -0,58$ ) та ФЕА ( $r = -0,59$ ). Рівень глутатіону має зворотні кореляційні зв'язки із

вмістом МАГ ( $r = -0,67$ ) та СФМ ( $r = -0,53$ ), підкреслюючи, що накопичення продуктів деградації ліпідів асоційоване зі зниженням антиоксидантного резерву.

Кореляційна матриця печінки щуки відображає стан гострого метаболічного напруження. Основною відповіддю на токсичну дію кобальту є посилений ліполіз ТАГ для забезпечення енергетичних потреб, що також супроводжується значним виснаженням загального вмісту глутатіону. Одночасно відбувається ремоделювання клітинних мембран зі зсувом співвідношення структурних фосfolіпідів, що суттєво змінює їхній склад. Високий рівень ПОЛ викликає пропорційну активацію загальної антиоксидантної активності для запобігання повному руйнуванню гепатоцитів.

Таблиця 6.3 узагальнює дані щодо характеру перебудови пулу енергетичних і структурних ліпідів, процеси ремоделювання клітинних мембран, а також динаміку розвитку оксидативного стресу та реактивність антиоксидантної системи у м'язах досліджуваних риб за дії іонів кобальту.

Таблиця 6.3

Характеристика змін показників вмісту металу, ліпідного складу, стану антиоксидантної системи м'язів карася та щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді

Серія	Co	ЗВЛ	ТАГ	НЕЖК	ДАГ	ХЛ	МАГ	ФЛ	ХЛ/ФЛ	ЛФХ	СФМ	ФХ	ФС	ФІ	ФЕА	ФХ/СФМ	ФХ/ФЕА	TAC	GST	GSH	ПОЛ
<b>Карась</b>																					
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↔	↓	↑	↔	↑	↔	↓	↑	↔	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↓	↑	↓
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↓	↔	↑	↔	↔	↓	↓	↑	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↓	↔	↓
<b>Щука</b>																					
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↔	↓	↔	↓	↓	↔	↑	↓	↔	↑	↔	↔	↓	↓	↓	↑	↔	↔	↑	↑
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↑	↓	↓	↑	↓	↓	↔	↔	↓	↑	↑	↓	↑	↓	↓	↓	↔	↔	↔	↑	↑

Комплексний аналіз цих біомаркерів демонструє виражену видоспецифічність біохімічних механізмів адаптації гідробіонтів. Розбіжності

у спрямованості змін показників вказують на те, що карась та щука застосовують принципово різні метаболічні стратегії для підтримки гомеостазу м'язової тканини в умовах токсичного навантаження. Отримані дані підкреслюють визначальну роль екологічної спеціалізації, трофічного рівня та вихідного фізіологічного статусу риб у формуванні їхньої загальної резистентності до інтоксикації важкими металами.

У результаті кореляційного аналізу виявлено зворотний зв'язок щодо накопичення кобальту та загального вмісту ліпідів у м'язовій тканині карася (Рис. 6.17). Зокрема спостерігається зниження рівня фосфоліпідів, що вказує на деградацію структурних компонентів клітинних мембран під дією токсиканта. Пряма кореляція з акумуляції металу та НЕЖК в умовах зниження ФЛ та ЗВЛ є свідченням активного розщеплення ліпідів (Dreier et al., 2020). Пряма кореляційна залежність накопичення кобальту та співвідношення ХЛ/ФЛ зумовлена зниженням рівня ФЛ, що змінює плинність клітинних мембран у бік підвищення в'язкості (Narayana & Antony, 2023).

У м'язах карася спостерігається тісний взаємозв'язок між частками НЕЖК та ФЛ ( $r = -0,89$ ), що може бути наслідком масштабного гідролізу мембранних фосфоліпідів. Пряма кореляція вмісту НЕЖК та співвідношення ХЛ/ФЛ ( $r = 0,86$ ) підтверджує, що вивільнення більшої кількості вільних ЖК (через розпад ФЛ) супроводжується різким зростанням в'язкості біомембран. Окрім того виявлено зворотну кореляцію НЕЖК із активністю глутатіон-S-трансферази ( $r = -0,72$ ) та інтенсивністю ПОЛ ( $r = -0,80$ ).

Рівень резервних ТАГ має зворотний кореляційний зв'язок із ХЛ ( $r = -0,66$ ) та ФЕА ( $r = -0,66$ ), а також прямий із ФХ ( $r = 0,62$ ). В умовах інтоксикації іонами кобальту спостерігається ремоделювання сарколеми, що проявляється у вираженій зворотній залежності між фракціями фосфоліпідів. Зокрема, зафіксовано чіткий перерозподіл як серед головних структурних компонентів мембрани (ФХ, ФЕА, СФМ), так і між сигнальними ФЛ (ФС, ФІ). Контроль балансу цих фосфоліпідів, особливо співвідношення ФХ/ФЕА, є відомим

механізмом підтримки функціональності клітин м'язів риб (Gao et al., 2025; Lordan et al., 2017;).

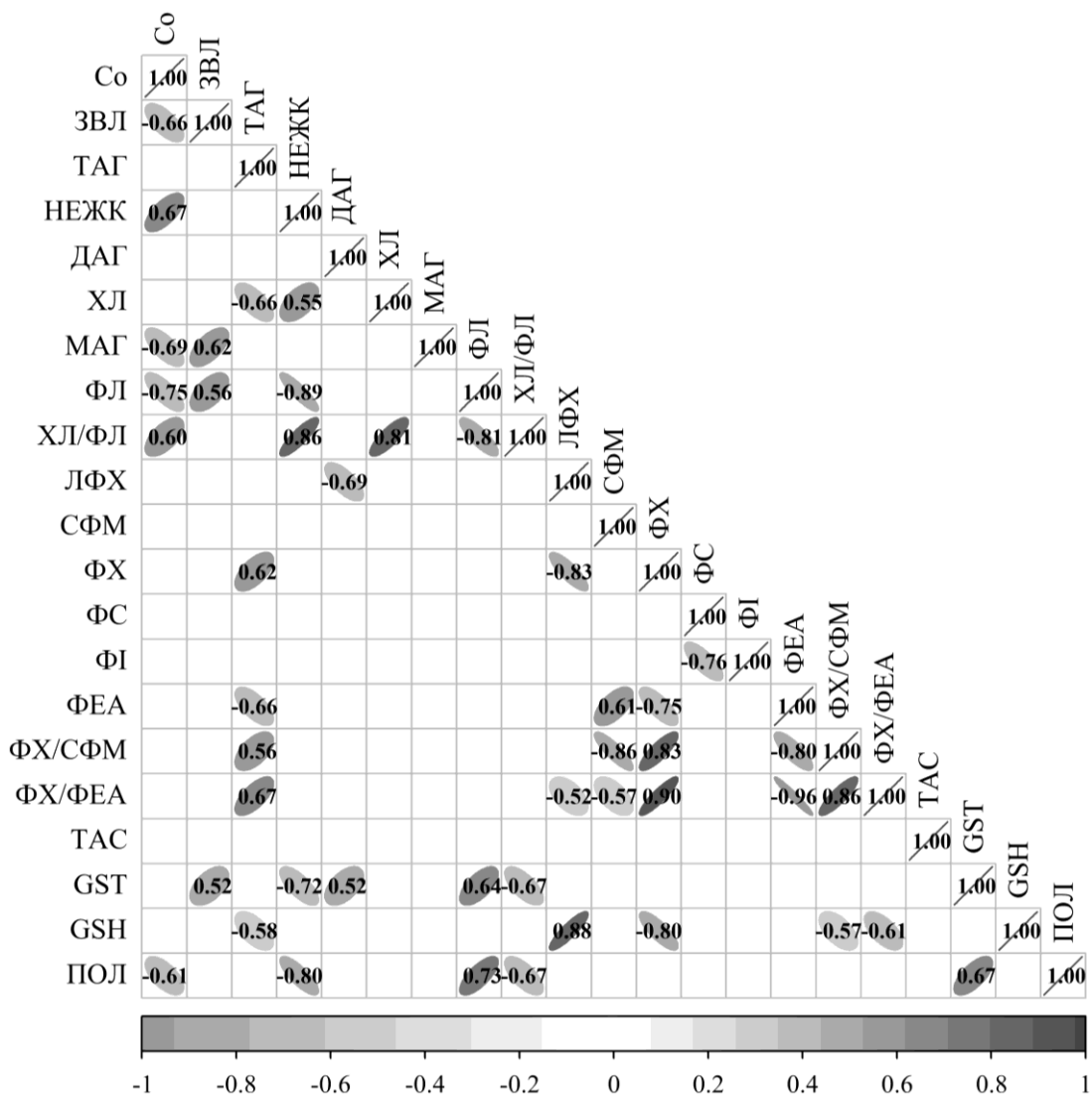


Рис. 6.17. Кореляційна матриця показників ліпідного складу і стану антиоксидантної системи м'язів карася за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Кореляційна матриця м'язової тканини карася відображає виражений катаболічний та деструктивний стан за впливу іонів кобальту у воді. Головним наслідком стресу є не тільки розщеплення резервних жирів, а й деградація структурних ФЛ з вивільненням НЕЖК. М'язи щуки представляють інший характер метаболічної відповіді на стресові чинники, яка суттєво відрізняється від карася. Акумуляція кобальту у м'язах щуки супроводжується специфічними структурними перебудовами мембран та пригніченням

ферментативної детоксикації (Рис. 6.18). Виявлено прямі кореляційні зв'язки накопичення кобальту та підвищення часток СФМ ( $r = 0,72$ ) та ЛФХ ( $r = 0,60$ ), що вказує на збільшення жорсткості та фосфоліпазної деградації клітинних мембран (Ahmmed et al., 2023; Ali & Szabó, 2023).

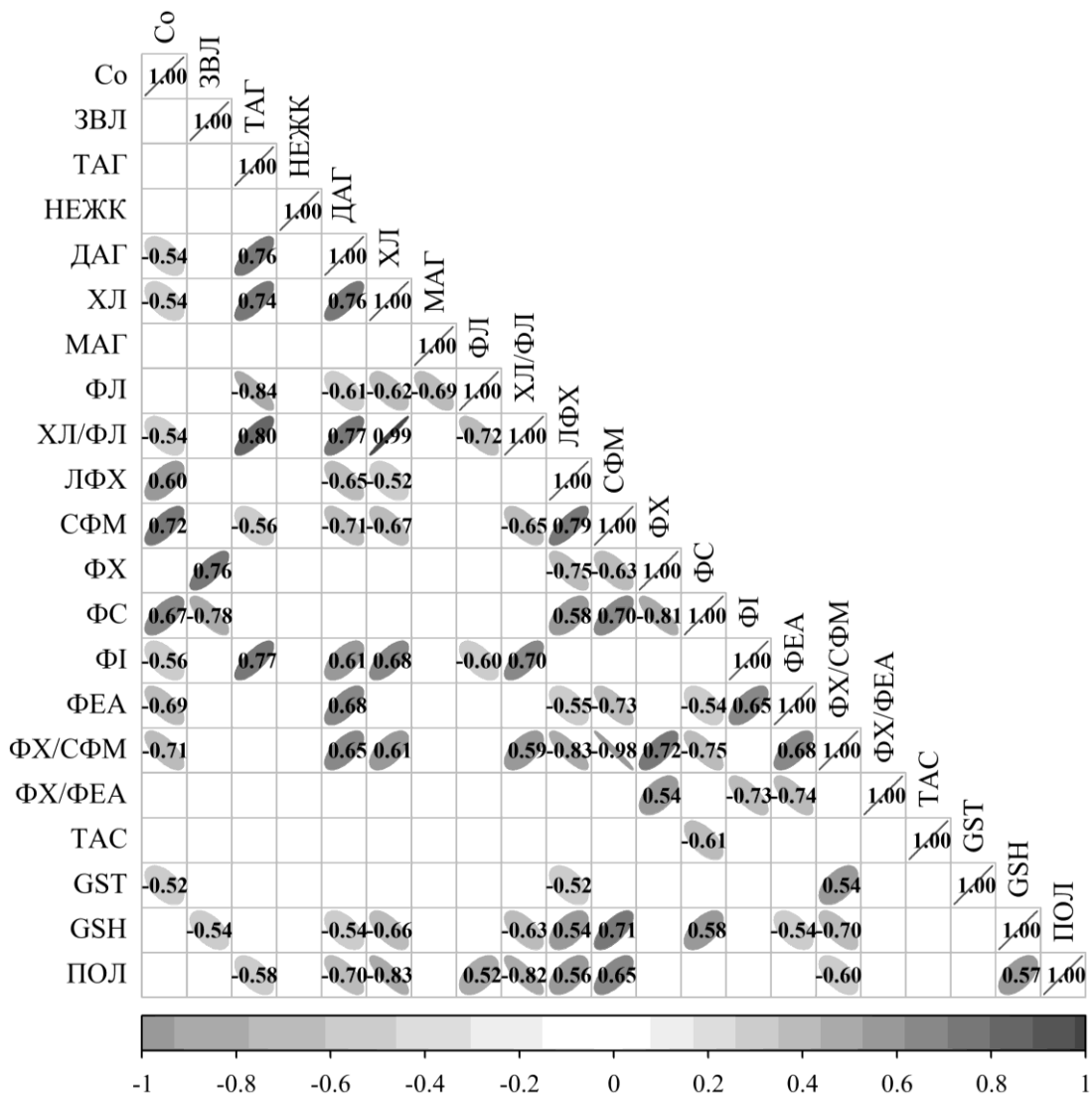


Рис. 6.18. Кореляційна матриця показників ліпідного складу і стану антиоксидантної системи м'язів щуки за дії іонів  $Co^{2+}$  у воді (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Матриця демонструє жорстку залежність між пулом нейтральних жирів та структурними фосфоліпідами. Високий рівень ТАГ асоційований із низьким рівнем ФЛ, що може свідчити про конкуренцію за субстрати синтезу або перерозподіл ліпідних потоків в умовах стресу (Asaoka et al., 2013). Рівень резервних ліпідів синхронізований із проміжними продуктами їх обміну

(ДАГ) та ХЛ. Загальний вміст ліпідів у м'язах щуки залежить від рівня ФХ та ФС, що підкреслює їхню кількісну значущість у цій тканині.

У м'язах щуки спостерігаються радикальні зміни в будові клітинних мембран, які тісно пов'язані з процесами їх пошкодження. Виявлено зворотний зв'язок між «рідким» ФХ та «жорстким» СФМ ( $r = -0,63$ ). Зменшення індексу ФХ/СФМ супроводжується значним зростанням продуктів деградації мембран – ЛФХ ( $r = -0,83$ ). Це підтверджується також прямим зв'язком ЛФХ та СФМ ( $r = 0,79$ ). Співвідношення ХЛ/ФЛ практично повністю детермінується рівнем ХЛ у тканині ( $r = 0,99$ ). Протилежний кореляційний зв'язок між двома основними класами холінвмісних ліпідів (ФХ та СФМ) вказує на взаємні механізми їх регуляції (Chen et al., 2023).

Продукти ПОЛ мають значні зворотні кореляційні зв'язки з низкою фракцій ліпідів: ХЛ ( $r = -0,83$ ) ДАГ ( $r = -0,70$ ), ТАГ ( $r = -0,58$ ), а також співвідношеннями ХЛ/ФЛ ( $r = -0,82$ ) та ФХ/СФМ ( $r = -0,60$ ). Натомість виявлено прямі зв'язки між інтенсивністю ПОЛ та збільшенням рівня ЛФХ ( $r = 0,56$ ) і СФМ ( $r = 0,65$ ). Це доводить, що оксидативний стрес може призводити до порушення функцій мембран сарколеми. Рівень глутатіону також має специфічні прямі зв'язки із частками ЛФХ ( $r = 0,54$ ), СФМ ( $r = 0,71$ ) та інтенсивністю ПОЛ ( $r = 0,57$ ). М'язова тканина відповідає на пошкодження мембран і посилення окиснення компенсаторною мобілізацією тіолової ланки антиоксидантного захисту (Ma et al., 2025).

Кореляційна структура м'язової тканини щуки відображає стан оксидативного та токсичного стресу. Акумуляція кобальту інгібує ферментативний захист та провокує структурні зміни мембран. Це створює сприятливі умови для інтенсивного пероксидного окиснення ліпідів, в результаті чого відбувається деградація клітинних мембран.

У таблиці 6.4 систематизовано загальні напрямки структурної реорганізації жирнокислотного профілю м'язової тканини карася та щуки за умов інтоксикації іонами кобальту. Порівняльний аналіз цих біомаркерів яскраво висвітлює дві протилежні метаболічні стратегії. У м'язах карася

спостерігається активна компенсаторна відповідь, що проявляється у накопиченні поліненасичених жирних кислот та закономірному зростанні індексів ненасиченості, що забезпечує підтримку флюїдності мембран (Hossain et al., 2026; Jin et al., 2025).

Таблиця 6.4

Характеристика змін жирнокислотного складу м'язів карася та щуки за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді

Серія	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 18:0	C 20:0	C 16:1	C 18:1	C 20:1	C 18:2	C 18:3	C 20:4	C 20:5	C 22:6	НЖК	МНЖК	ПНЖК	ПНЖК/НЖК	ІН	ІЯЛР
<b>Карась</b>																			
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↔	↑	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↑	↔	↔	↔	↔	↔	↑
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↔	↑	↔	↓	↔	↔	↓	↑	↔	↔	↔	↔	↑	↔	↓	↑	↑	↑	↑
<b>Щука</b>																			
0,1 мг/дм <sup>3</sup>	↓	↔	↔	↔	↓	↔	↔	↑	↔	↔	↑	↓	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔
0,25 мг/дм <sup>3</sup>	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↔	↑	↑	↔	↑	↓	↔	↓	↔	↔	↔	↔	↔

Натомість у м'язовій тканині щуки виявлено зниження всіх досліджуваних фракцій ненасичених жирних кислот за дії 0,25 мг/дм<sup>3</sup> іонів кобальту у воді. Серед фракцій МНЖК спостерігається зниження вмісту пальмітоолеїнової кислоти (16:1) та достовірне підвищення ейкозенової кислоти (20:1) за обох концентрацій металу, що може вказувати на специфічну адаптивну реакцію ферментних систем (елонгаз) у відповідь на надлишок кобальту (Tang et al., 2026; Turkmen et al., 2019). Окрім того за впливу обох концентрацій кобальту у м'язах щуки зростає вміст арахідонової кислоти (20:4), яка є ключовим попередником ейкозаноїдів – медіаторів запалення (Araújo et al., 2022), тоді як зниження рівня ейкозапентаєнової кислоти (20:5) є прямим маркером посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (Chung et al., 2013).

Акумуляція кобальту демонструє виражений вплив на ступінь ненасиченості ліпідів, що свідчить про адаптаційні або патологічні

перебудови мембран (Рис. 6.19). Виявлено сильні прямі кореляції кобальту з індексом ненасиченості ( $r = 0,81$ ), індексом якості ліпідів риби ( $r = 0,82$ ) та загальним пулом ПНЖК ( $r = 0,79$ ). Це вказує на те, що накопичення металу супроводжується значним зростанням частки високоненасичених жирних кислот у тканині. Ця кореляція здебільшого забезпечується докозагексаєною кислотою (22:6), яка є важливою для регуляції плинності клітинних мембран (Laurent et al., 2025; Roma et al., 2022).

Співвідношення ПНЖК/НЖК також має сильну пряму залежність із вмістом металу ( $r = 0,71$ ). На тлі зростання ПНЖК спостерігається зворотний зв'язок із загальним вмістом МНЖК та стеариною кислотою (18:0). Водночас фіксується накопичення коротколанцюгових насичених ЖК: лауринової (12:0) та міристинової (14:0). Це може свідчити про специфічне ремоделювання ліпідів для підтримки функціональності мембран в умовах токсичного стресу.

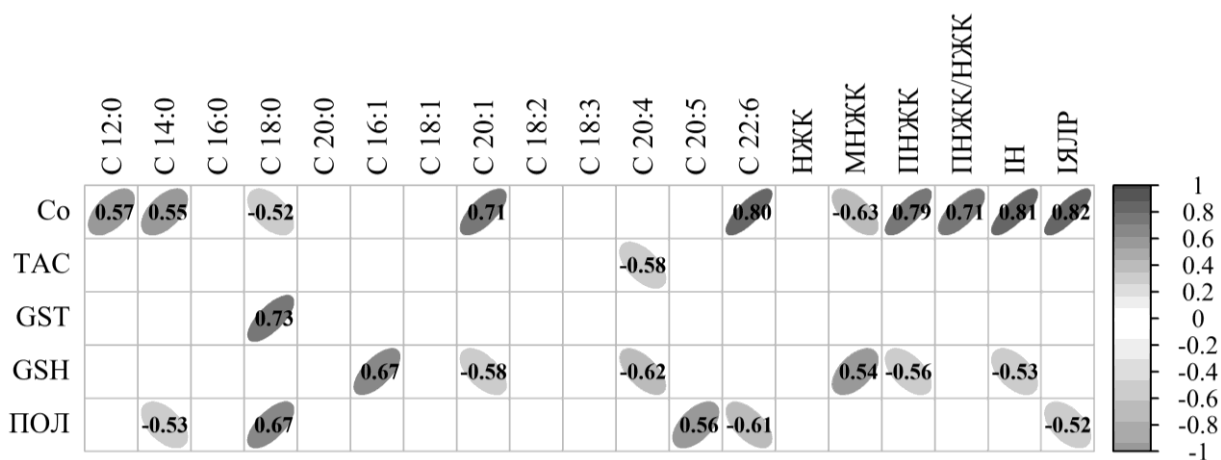


Рис. 6.19. Кореляційна матриця показників вмісту кобальту, показників стану антиоксидантної системи, жирнокислотного профілю та їх співвідношень у м'язах карася (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Вміст загального глутатіону має зворотні кореляційні зв'язки із загальним пулом ПНЖК ( $r = -0,56$ ), індексом ненасиченості ( $r = -0,53$ ), ліноленою (18:3) ( $r = -0,58$ ) та арахідоною (20:4) ( $r = -0,62$ ) кислотами. Натомість, виявлено прямі кореляції глутатіону із пулом МНЖК ( $r = 0,54$ ), зокрема з олеїною кислотою (18:1) ( $r = 0,67$ ). МНЖК є значно стійкішими

до окиснення, що дозволяє клітинам зберігати пул антиоксидантів. Фермент глутатіон-S-трансфераза має прямий кореляційний зв'язок лише зі стеариноювою кислотою (18:0), тоді як загальна антиоксидантна активність зворотно корелює з арахідоноювою кислотою (20:4). Матриця відображає складний баланс між токсичним впливом, структурною адаптацією та оксидативним пошкодженням м'язової тканини карася.

Кореляційні зміни ЖК у м'язах щуки є значно менш інтенсивними, що вказує на інший, більш специфічний та точковий характер біохімічної відповіді на стресові чинники (Рис. 6.20). Виявлено зворотний зв'язок металу із насиченою лауриноювою кислотою (12:0), що свідчить про зниження частки коротколанцюгових ЖК при накопиченні металу. Крім того фіксується сильна пряма залежність між рівнем токсиканта та вмістом мононенасиченої гадолеїнової кислоти (20:1).

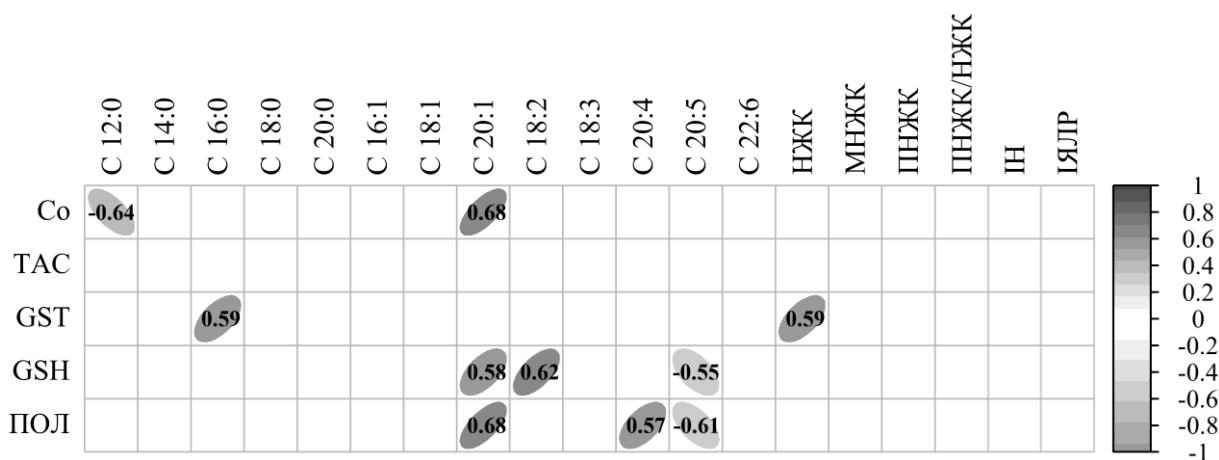


Рис. 6.20. Кореляційна матриця показників вмісту кобальту, показників стану антиоксидантної системи, жирнокислотного профілю та їх співвідношень у м'язах щуки (коефіцієнт Пірсона  $r$ ,  $n = 5$ ).

Інтенсивність ПОЛ у м'язах щуки демонструє виражену селективність щодо певних жирних кислот. Зворотна кореляція вказує на те, що поліненасичена ейкозапентаєнова кислота (20:5) виступає однією з головних мішеней для окиснення вільними радикалами. Зростання інтенсивності ПОЛ призводить до її виснаження у тканині. Виявлено прямі кореляції

інтенсивності ПОЛ з гадолеїною (20:1) та арахідоною (20:4) кислотами. Це може відображати адаптивний перерозподіл ліпідного пулу або вибіркоче збереження цих кислот на тлі деструкції інших ПНЖК.

Зміни вмісту загального глутатіону частково віддзеркалюють процеси ПОЛ. Зворотний кореляційний зв'язок із ейкозапентаєною кислотою (20:5) ( $r = -0,55$ ) підтверджує синхронне їх виснаження в умовах стресу. Водночас глутатіон має прямі кореляції з лінолевою (18:2) ( $r = 0,62$ ) та гадолеїною (20:1) ( $r = 0,58$ ) кислотами, що вказує на складний баланс між рівнем тіолового захисту та наявністю певних ненасичених субстратів. Глутатіон-S-трансфераза виявляє пряму кореляцію із загальним вмістом НЖК ( $r = 0,59$ ) та насиченою пальмітиною кислотою (16:0) ( $r = 0,59$ ). Зростання активності цього ферменту асоціюється з підвищенням частки ліпідів, які є більш стійкими до пероксидного окиснення порівняно з ПНЖК.

Таким чином, кореляційна структура м'язової тканини щуки вказує на високоспецифічні біохімічні відповіді без ремоделювання індексів співвідношення ЖК. Пероксидне окиснення ліпідів сфокусоване на деградації ейкозапентаєної кислоти (20:5), що супроводжується витрачанням глутатіону.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі досліджено показники фракційного складу ліпідів та окисного стресу в тканинах карася сріблястого (*Carassius gibelio* (Bloch, 1782)) та щуки звичайної (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) за впливу підвищених концентрацій іонів  $\text{Co}^{2+}$  у воді (0,1 та 0,25 мг/дм<sup>3</sup>). Проаналізовано можливість використання фізіолого-біохімічних характеристик тканин риб з метою оцінки забруднення прісноводних екосистем іонами кобальту.

1. Встановлено тканинспецифічний характер накопичення кобальту в організмі обох видів риб за дії його підвищених концентрацій у воді. Вищий рівень кумуляції металу виявлено у м'язах і печінці гідробіонтів, тоді як у зябрах зростання вмісту іонів  $\text{Co}^{2+}$  зафіксовано лише у щуки за 0,25 мг/дм<sup>3</sup>.
2. У карася адаптаційна стратегія реалізується через збереження загального вмісту ліпідів у зябрах і їх інтенсивне накопичення в печінці, тоді як у щуки відмічається зниження кількості ліпідів лише у зябрах. Спільною реакцією для обох видів досліджуваних риб є значна мобілізація ліпідних резервів скелетних м'язів для підтримки гомеостазу та протидії токсичному стресу.
3. Доведено, що спільною неспецифічною реакцією риб на токсичний стрес є інтенсифікація ліполізу за рахунок зниження вмісту триацилгліцеролів та накопичення неестерифікованих жирних кислот для забезпечення підвищених енергозатрат для процесів детоксикації.
4. Показано, що спільною адаптивною реакцією у зябрах обох досліджуваних видів риб була закономірна модифікація ліпідного бішару шляхом підвищення частки фосфатидилхоліну та одночасного зниження сфінгомієліну та фосфатидилетаноламіну. Водночас реакція печінки та м'язів мала видоспецифічний характер – якщо у карася спостерігалось збереження структурної стабільності клітинних мембран, то в тканинах щуки розвивалася дестабілізація ліпідного бішару. Це проявлялося порушенням балансу медіаторних фосфоліпідів та накопиченням продуктів їх деградації, зокрема лізофосфатидилхоліну.

5. У зябрах обох видів риб відмічена зворотна кореляція між зменшенням співвідношення холестерол/фосфоліпіди та збільшенням індексів – фосфатидилхолін/сфінгомієлін, фосфатидилхолін/фосфатидилетаноламін, що свідчить про зростання плинності біологічних мембран та може фізіологічно сприяти виведенню токсиканта із тканини.
6. У карася вімічалось зростання сумарного вмісту поліненасичених жирних кислот, особливо докозагексаєнової кислоти (на 29,2 % при 0,1 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup> та 78,8 % при 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup>), тоді як у щуки було відмічені зниження ейкозапентаєнової кислоти (на 12,4 % та 19,1 % відповідно) при одночасному накопиченні лінолевої (на 34,5 % за концентрації 0,25 мг/дм<sup>3</sup> Co<sup>2+</sup>) та арахідонової (на 7,6 % та 7,5 % відповідно) кислот, що свідчить про порушення метаболічної пластичності клітинних мембран.
7. На відміну від карася, у якого стійкість до дії кобальту забезпечувалася здатністю до антиоксидативної гіперкомпенсації (суттєвим підвищенням рівня загального глутатіону та активності глутатіон-S-трансферази), у щуки вплив металу індукував виснаження неферментативної ланки антиоксидантного захисту (вмісту глутатіону у зябрах і печінці) та інтенсифікував процеси пероксидного окиснення ліпідів у всіх досліджуваних тканинах риб.
8. Обґрунтовано перспективність використання біохімічних маркерів (фракцій холестеролу, фосфатидилхоліну, сфінгомієліну, фосфатидилетаноламіну, поліненасичених жирних кислот, вмісту глутатіону, активності глутатіон-S-трансферази та інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів) для оцінки токсикологічного статусу водних екосистем. Доведено, що щука виступає високочутливими біоіндикатором ранніх стадій забруднення водойм важкими металами, тоді як карась є репрезентативним видом для оцінки загального адаптаційного потенціалу іхтіофауни за умов хронічного антропогенного навантаження.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Вовчек, Н. О., Хоменчук, В. О., & Курант, В. З. (2024). Гематологічні показники в організмі прісноводних риб за підвищених концентрацій іонів кобальту. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, (4), 64–71. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2024.04.064>
2. Грициняк, І. І., Смолянінов, К. Б., & Янович, В. Г. (2010). Обмін ліпідів у риб. Тріада плюс.
3. Держспоживстандарт України. (2007). Якість води. Визначення 33 елементів методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою (ДСТУ ISO 11885:2005)
4. Міністерство охорони здоров'я України. (2012, 19 листопада). *Про деякі питання діяльності Комітету з питань етики (біоетики)* (Наказ № 1287). Законодавство України. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1287736-12#Text>
5. Хоменчук, В. О., Рабченко, О. О., Сенік, Ю. І., Голіней, Г. М., & Курант, В. З. (2020). Фосфоліпідний склад тканин коропа і щуки за дії йонів Fe<sup>3+</sup>. *Гідробиологічний журнал*, 56(2), 59–69. <http://jnas.nbu.gov.ua/article/UJRN-0001202569>
6. Abdel-Aziz, R. L., Elwoa, S. E.-S., Al-Megrin, W. A., Yehia, H. M., Arab, A. A. A., Donia, M. A. M. A., Abdel-Gaber, R., & Elkhadragey, M. F. (2022). Effects of heavy metal contamination on *Oreochromis niloticus* (Tilapia fish). *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.47822>
7. Adada, M., Luberto, C., & Canals, D. (2016). Inhibitors of the sphingomyelin cycle: Sphingomyelin synthases and sphingomyelinases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 197, 45–59. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2015.07.008>
8. Adriano, D. C. (1986). *Trace elements in the terrestrial environment*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-1907-9>

9. Aebi, H., Wyss, S. R., Scherz, B., & Skvaril, F. (1974). Heterogeneity of erythrocyte catalase II. isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *European Journal of Biochemistry*, 48(1), 137–145. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03751.x>
10. Ahmad, S., Single, S., Liu, Y., Hough, K. P., Wang, Y., Thannickal, V. J., Athar, M., Goliwas, K. F., & Deshane, J. S. (2024). Heavy metal exposure-mediated dysregulation of sphingolipid metabolism. *Antioxidants*, 13(8), 978. <https://doi.org/10.3390/antiox13080978>
11. Ahmad, Z., Choudhary, M. A., Mehmood, A., Wakeel, R., Akhtar, T., & Rafiq, M. A. (2016). Synthesis of polypyrrole nano/microspheres using cobalt(III) as an oxidizing agent and its ammonia sensing behavior. *Macromolecular Research*, 24(7), 596–601. <https://doi.org/10.1007/s13233-016-4081-x>
12. Ahmmed, M. K., Hachem, M., Ahmmed, F., Rashidinejad, A., Oz, F., Bekhit, A. A., Carne, A., & Bekhit, A. E.-D. A. (2023). Marine Fish-Derived Lysophosphatidylcholine: Properties, Extraction, Quantification, and Brain Health Application. *Molecules*, 28(7), 3088. <https://doi.org/10.3390/molecules28073088>
13. Alfee, S. L., & Bloor, M. C. (2025). A global review of river sediment contamination and remobilization through climate change-induced flooding. *Sustainable Environment*, 11(1). <https://doi.org/10.1080/27658511.2024.2440957>
14. Ali, O., & Szabó, A. (2023). Review of Eukaryote Cellular Membrane Lipid Composition, with Special Attention to the Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15693. <https://doi.org/10.3390/ijms242115693>
15. Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence,

- toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
16. Almashhadany, D. A., Rashid, R. F., Altaif, K. I., Mohammed, S. H., Mohammed, H. I., & Al-Bader, S. M. (2024). Heavy metal(loid) bioaccumulation in fish and its implications for human health. *Italian Journal of Food Safety*. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2024.12782>
17. Alves Miranda, G., Soares Dos Santos, F., Lourenço Pereira Cardoso, M., Etterson, M., C Amorim, C., & V M Starling, M. C. (2025). Proposal of novel predicted no effect concentrations (PNEC) for metals in freshwater using species sensitivity distribution for different taxonomic groups. *Scientific reports*, 15(1), 8180. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-92692-4>
18. Amenta, J. S. (1964). A rapid chemical method for quantification of lipids separated by thin-layer chromatography. *Journal of Lipid Research*, 5(2), 270–272. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)40251-2](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)40251-2)
19. Anderson, M. E. (1985). Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods in Enzymology*, 113, 548–555. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(85\)13073-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(85)13073-9)
20. Arambourou, H., Llorente, L., Moreno-Ocio, I., Herrero, Ó., Barata, C., Fuertes, I., Delorme, N., Méndez-Fernández, L., & Planelló, R. (2020). Exposure to heavy metal-contaminated sediments disrupts gene expression, lipid profile, and life history traits in the midge *Chironomus riparius*. *Water Research*, 168, Article 115165. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115165>
21. Araújo, B. C., Skrzynska, A. K., Marques, V. H., Tinajero, A., Del Rio-Zaragoza, O. B., Viana, M. T., & Mata-Sotres, J. A. (2022). Dietary Arachidonic Acid (20:4n-6) Levels and Its Effect on Growth Performance, Fatty Acid Profile, Gene Expression for Lipid Metabolism, and Health Status of Juvenile California Yellowtail (*Seriola dorsalis*). *Fishes*, 7(4), 185. <https://doi.org/10.3390/fishes7040185>
22. Araujo, G. d. F., Soares, L. O. S., Junior, S. F. S., Barreto de Carvalho, L. V., Rocha, R. C. C., Saint'Pierre, T., Hauser-Davis, R. A., Correia, F. V., &

- Saggiaro, E. M. (2022). Oxidative stress and metal homeostasis alterations in *Danio rerio* (zebrafish) under single and combined carbamazepine, acetamiprid and cadmium exposures. *Aquatic Toxicology*, 245, 106122. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106122>
23. Asaoka, Y., Terai, S., Sakaida, I., & Nishina, H. (2013). The expanding role of fish models in understanding non-alcoholic fatty liver disease. *Disease Models & Mechanisms*, 6(4), 905–914. <https://doi.org/10.1242/dmm.011981>
24. Authman, M. M. N, Zaki M. S., Khallaf E. A., Abbas H. H. (2015). Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research & Development*, 06(04). <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000328>
25. Awed, E. M., Sadek, K. M., Soliman, M. K., Khalil, R. H., Younis, E. M., Abdel-Warith, A.-W. A., Van Doan, H., Dawood, M. A. O., & Abdel-Latif, H. M. R. (2020). *Spirulina platensis* alleviated the oxidative damage in the gills, liver, and kidney organs of Nile tilapia intoxicated with sodium sulphate. *Animals*, 10(12), 2423. <https://doi.org/10.3390/ani10122423>
26. Bagnyukova, T. V., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2005). Adaptive response of antioxidant enzymes to catalase inhibition by aminotriazole in goldfish liver and kidney. *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology*, 142(3), 335–341. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.08.003>
27. Baki, M. A., Hossain, M. M., Akter, J., Quraishi, S. B., Haque Shojib, M. F., Atique Ullah, A. K. M., & Khan, M. F. (2018). Concentration of heavy metals in seafood (fishes, shrimp, lobster and crabs) and human health assessment in Saint Martin Island, Bangladesh. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 159, 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.035>
28. Banfalvi, G. (2016). Heavy metals, trace elements and their cellular effects. In G. Banfalvi (Ed.), *Cell effects of heavy metals* (pp. 3–28). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28098-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28098-1_1)

29. Bastiaanse, E. M. L., Höld, K. M., & Van der Laarse, A. (1997). The effect of membrane cholesterol content on ion transport processes in plasma membranes. *Cardiovascular Research*, 33(2), 272–283. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(96\)00193-9](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(96)00193-9)
30. Bejaoui, S., Chetoui, I., Ghribi, F., Belhassen, D., Abdallah, B. B., Fayala, C. B., Boubaker, S., Mili, S., & Soudani, N. (2024). Exposure to different cobalt chloride levels produces oxidative stress and lipidomic changes and affects the liver structure of *Cyprinus carpio* juveniles. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-34578-y>
31. Bellazzi, F., & Bertolaso, M. (2024). Emergence in Complex Physiological Processes: The Case of Vitamin B12 Functions in Erythropoiesis. *Systems*, 12(4), 131. <https://doi.org/10.3390/systems12040131>
32. Benoit, C. R., Walsh, D. J., Mekerishvili, L., Huerbi, N., Stanton, A. E., McGaughey, D. M., & Brody, L. C. (2021). Loss of the vitamin B-12 transport protein *tcn2* results in maternally inherited growth and developmental defects in zebrafish. *The Journal of Nutrition*, 151(9), 2522–2532. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab151>
33. Bereded, N. K., Curto, M., Domig, K. J., Abebe, G. B., Fanta, S. W., Waidbacher, H., & Meimberg, H. (2020). Metabarcoding Analyses of Gut Microbiota of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Lake Awassa and Lake Chamo, Ethiopia. *Microorganisms*, 8(7), 1040. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071040>
34. Betancourt-Cantera, J. A., Sánchez-De Jesús, F., Bolarín-Miró, A. M., Torres-Villaseñor, G., & Betancourt-Cantera, L. G. (2019). Magnetic properties and crystal structure of elemental cobalt powder modified by high-energy ball milling. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(5), 4995–5003. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2019.07.048>

35. Bilandžić, N., Čalopek, B., Sedak, M., Đokić, M., Murati, T., Kmetič, I., & Gajger, I. T. (2022). The content of cobalt, silver and vanadium in raw cow's milk in Croatia and risk assessment for consumers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03436-9>
36. Birge, R. B., Boeltz, S., Kumar, S., Carlson, J., Wanderley, J., Calianese, D., Barcinski, M., Brekken, R. A., Huang, X., Hutchins, J. T., Freimark, B., Empig, C., Mercer, J., Schroit, A. J., Schett, G., & Herrmann, M. (2016). Phosphatidylserine is a global immunosuppressive signal in efferocytosis, infectious disease, and cancer. *Cell Death & Differentiation*, 23(6), 962–978. <https://doi.org/10.1038/cdd.2016.11>
37. Blust, R. (2011). Cobalt. In *Fish physiology* (Vol. 31, pp. 291–326). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(11\)31006-0](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(11)31006-0)
38. Borbély, G., & Nagy, E. (2009). Removal of zinc and nickel ions by complexation–membrane filtration process from industrial wastewater. *Desalination*, 240(1-3), 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.11.073>
39. Cai, G., Zhu, J., Shen, C., Cui, Y., Du, J., & Chen, X. (2012). The effects of cobalt on the development, oxidative stress, and apoptosis in zebrafish embryos. *Biological trace element research*, 150(1-3), 200–207. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9506-6>
40. Calder, P. C. (2015). Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 39(1\_suppl), 18S–32S. <https://doi.org/10.1177/0148607115595980>
41. Calderón-Ospina, C. A., & Nava-Mesa, M. O. (2020). B vitamins in the nervous system: Current knowledge of the biochemical modes of action and synergies of thiamine, pyridoxine, and cobalamin. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 26(1), 5–13. <https://doi.org/10.1111/cns.13207>
42. Carocci, A., Catalano, A., Sinicropi, M. S., & Genchi, G. (2018). Oxidative stress and neurodegeneration: The involvement of iron. *BioMetals*, 31(5), 715–735. <https://doi.org/10.1007/s10534-018-0126-2>

43. Chełchowska, M., Gajewska, J., Szczepanik, E., Mazur, J., Cychol, A., Kuźniar-Pałka, A., & Ambroszkiewicz, J. (2025). Oxidative Stress Indicated by Nuclear Transcription Factor Nrf2 and Glutathione Status in the Blood of Young Children with Autism Spectrum Disorder: Pilot Study. *Antioxidants*, *14*(3), 320. <https://doi.org/10.3390/antiox14030320>
44. Chen, C., Xu, C., Qian, D., Yu, Q., Huang, M., Zhou, L., Qin, J. G., Chen, L., & Li, E. (2020). Growth and health status of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, exposed to chronic water born cobalt. *Fish & Shellfish Immunology*, *100*, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.03.011>
45. Chen, H.-Y., & Lin, Y.-F. (2025). Cobalt(II)-Mediated fenton-like reactions: Effects of second-sphere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and thiolate coordination. *Inorganic Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.5c04687>
46. Chen, J., & Liu, H. (2020). Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(16), 5695. <https://doi.org/10.3390/ijms21165695>
47. Chen, J.-N., Zhang, Y.-Y., Huang, X., Wang, H.-P., Dong, X., Zhu, B., & Qin, L. (2023). Analysis of lipid molecule profiling and conversion pathway in mandarin fish (*siniperca chuatsi*) during fermentation via untargeted lipidomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00769>
48. Chen, X., Sun, W., Song, Y., Wu, S., Xie, S., Xiong, W., Peng, C., Peng, Y., Wang, Z., Lek, S., Hogstrand, C., Sørensen, M., Pan, L., & Liu, D. (2024). Acute waterborne cadmium exposure induces liver ferroptosis in *Channa argus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *283*, 116947. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116947>
49. Chetoui, I., Ghribi, F., Bejaoui, S., Belhassen, D., Baati, R., & Soudani, N. (2025). Impact of cobalt levels on fatty acid profile and nutritional quality of common carp muscle (*cyprinus carpio*). *Lipids*. <https://doi.org/10.1002/lipd.12449>

- 50.Christie, W. W., & Han, X. (2012). *Lipid analysis: Isolation, separation, identification, and structural analysis of lipids* (4th ed.). Oily Press.
- 51.Chung, M. L., Lee, K. Y., & Lee, C. Y. (2013). Profiling of oxidized lipid products of marine fish under acute oxidative stress. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 53, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.047>
- 52.Collins, R. N., & Kinsela, A. S. (2010). The aqueous phase speciation and chemistry of cobalt in terrestrial environments. *Chemosphere*, 79(8), 763–771. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.003>
- 53.Crider, B. P., Prokop, C. J., Liddick, S. N., Albers, H. M., Alshudifat, M., Ayangeakaa, A. D., Carpenter, M. P., Carroll, J. J., Chen, J., Chiara, C. J., Dombos, A. C., Go, S., Grzywacz, R., Harker, J., Janssens, R. V. F., Larson, N., Lauritsen, T., Lewis, R., Quinn, S. J., ... Zhu, S. (2023). New method for level-lifetime measurements with thick scintillators. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 168525. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2023.168525>
- 54.Dahley, C., Garessus, E. D. G., Ebert, A., & Goss, K.-U. (2022). Impact of cholesterol and sphingomyelin on intrinsic membrane permeability. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 183953. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2022.183953>
- 55.Das, D., Das, P., Moniruzzaman, M., Poddar Sarkar, M., Mukherjee, J., & Chakraborty, S. B. (2018). Consequences of oxidative damage and mitochondrial dysfunction on the fatty acid profile of muscle of Indian Major Carps considering metal toxicity. *Chemosphere*, 207, 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.108>
- 56.Dawaliby, R., Trubbia, C., Delporte, C., Noyon, C., Ruyschaert, J.-M., Van Antwerpen, P., & Govaerts, C. (2015). Phosphatidylethanolamine is a key

- regulator of membrane fluidity in eukaryotic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 291(7), 3658–3667. <https://doi.org/10.1074/jbc.m115.706523>
57. Đikanović, V., Skorić, S., & Gačić, Z. (2016). Concentrations of metals and trace elements in different tissues of nine fish species from the Medjuvrsje reservoir (West Morava River Basin, Serbia). *Archives of Biological Sciences*, 68(4), 811–819. <https://doi.org/10.2298/abs151104069d>
58. Dinesh Kumar, R., Pandey, V., Jha, D. K., Rajakumar, S., Dharani, G., & Ramakrishnan, B. (2025). Comparative evaluation of heavy metal concentration in three commercially important fish: Insights from organ-specific and interspecies variability. *Frontiers in Marine Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2025.1634855>
59. Dreier, D. A., Bowden, J. A., Aristizabal-Henao, J. J., Denslow, N. D., & Martyniuk, C. J. (2020). Ecotoxicology-lipidomics: An emerging concept to understand chemical-metabolic relationships in comparative fish models. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 36, 100742. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2020.100742>
60. Duarte, B., Carreiras, J., Pérez-Romero, J. A., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Matos, A. R., Marques, J. C., & Caçador, I. (2018). Halophyte fatty acids as biomarkers of anthropogenic-driven contamination in Mediterranean marshes: Sentinel species survey and development of an integrated biomarker response (IBR) index. *Ecological Indicators*, 87, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.12.050>
61. Ekiz, Ö. N., & Karabulut, G. (2026). Tissue-Specific accumulation of heavy metals and oxidative stress in atlantic bonito (sarda sarda, bloch 1793) marketed in kütahya. *Biology*, 15(4), 341. <https://doi.org/10.3390/biology15040341>
62. Environment and Climate Change Canada, & Health Canada. (2017). *Screening assessment: Cobalt and cobalt-containing substances*. Government of Canada. <https://www.canada.ca/en/environment-climate->

[change/services/evaluating-existing-substances/screening-assessment-cobaltcobalt-containing-substances.html](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.013)

63. Ernst, R., Ejsing, C. S., & Antony, B. (2016). Homeoviscous adaptation and the regulation of membrane lipids. *Journal of Molecular Biology*, 428(24), 4776–4791. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.013>
64. Fadhlou, M., & Couture, P. (2016). Combined effects of temperature and metal exposure on the fatty acid composition of cell membranes, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in yellow perch ( *Perca flavescens* ). *Aquatic Toxicology*, 180, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.09.005>
65. Fajardo, V. A., McMeekin, L., & LeBlanc, P. J. (2011). Influence of phospholipid species on membrane fluidity: A meta-analysis for a novel phospholipid fluidity index. *The Journal of Membrane Biology*, 244(2), 97–103. <https://doi.org/10.1007/s00232-011-9401-7>
66. Falcone, E., Stellato, F., Vileno, B., Bouraguba, M., Lebrun, V., Ilbert, M., Morante, S., & Faller, P. (2023). Revisiting the pro-oxidant activity of copper: Interplay of ascorbate, cysteine, and glutathione. *Metallomics*, 15(7), Article mfad040. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfad040>
67. Fang, H., Kang, J., & Zhang, D. (2017). Microbial production of vitamin B12: A review and future perspectives. *Microbial Cell Factories*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>
68. Farmer, K., Smith, C., Hayley, S., & Smith, J. (2015). Major alterations of phosphatidylcholine and lysophosphotidylcholine lipids in the substantia nigra using an early stage model of parkinson’s disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 18865–18877. <https://doi.org/10.3390/ijms160818865>
69. Firat, Ö., & Kargin, F. (2009). Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of nile tilapia oreochromis niloticus. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(1), 151–157. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9344-5>

70. Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)
71. Gandar, A., Laffaille, P., Canlet, C., Tremblay-Franco, M., Gautier, R., Perrault, A., Gress, L., Mormède, P., Tapie, N., Budzinski, H., & Jean, S. (2017). Adaptive response under multiple stress exposure in fish: From the molecular to individual level. *Chemosphere*, 188, 60–72. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.089>
72. Gao, X., Li, M., Guan, J., Cheng, Z., Xie, D., & Li, Y. (2025). Transcriptomic Analysis Reveals Regulatory Responses of Fatty Acid Positional Distribution in Triacylglycerols and Lipid Composition to Dietary n-3 HUFA in the Muscle of *Trachinotus ovatus*. *Animals*, 15(16), 2427. <https://doi.org/10.3390/ani15162427>
73. Genchi, G., Carocci, A., Lauria, G., Sinicropi, M. S., & Catalano, A. (2020). Nickel: Human health and environmental toxicology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 679. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030679>
74. Genchi, G., Lauria, G., Catalano, A., Carocci, A., & Sinicropi, M. S. (2023). Prevalence of cobalt in the environment and its role in biological processes. *Biology*, 12(10), 1335. <https://doi.org/10.3390/biology12101335>
75. Gheorghe, D.-C., Stefan-van Staden, R.-I., & van Staden, J. (. F. (2022). Mini-Review: Electrochemical sensors used for the determination of water- and fat-soluble vitamins: B, D, K. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1–10. <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2045557>
76. Ghribi, F., Bejaoui, S., Chetoui, I., Trabelsi, W., Belhassen, D., Ben Fayala, C., Boubaker, S., Mili, S., & Soudani, N. (2025). Toxicological effects of cobalt on common carp: Oxidative stress, ionic imbalance, fatty acid disruption, and gill histopathology. *Environmental Geochemistry and Health*, 47(4). <https://doi.org/10.1007/s10653-025-02407-x>

77. Ghribi, F., Boussoufa, D., Aouini, F., Bejaoui, S., Chetoui, I., Rabeh, I., & El Cafsi, M. (2018). Seasonal variation of biochemical composition of Noah's ark shells (*Arca noae* L. 1758) in a Tunisian coastal lagoon in relation to its reproductive cycle and environmental conditions. *Aquatic Living Resources*, *31*, 14. <https://doi.org/10.1051/alr/2018002>
78. Giedyk, M., Goliszewska, K., & Gryko, D. (2015). Vitamin B12 catalysed reactions. *Chemical Society Reviews*, *44*(11), 3391–3404. <https://doi.org/10.1039/c5cs00165j>
79. Giraldo-Lorza, J. M., Leidy, C., & Manrique-Moreno, M. (2024). The Influence of Cholesterol on Membrane Targeted Bioactive Peptides: Modulating Peptide Activity Through Changes in Bilayer Biophysical Properties. *Membranes*, *14*(10), 220. <https://doi.org/10.3390/membranes14100220>
80. Goicoechea, L., Conde de la Rosa, L., Torres, S., García-Ruiz, C., & Fernández-Checa, J. C. (2023). Mitochondrial cholesterol: Metabolism and impact on redox biology and disease. *Redox biology*, *61*, 102643. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102643>
81. Goñi, F. M. (2022). Sphingomyelin: What is it good for? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *633*, 23–25. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.08.074>
82. González-Montaña, J.-R., Escalera-Valente, F., Alonso, A. J., Lomillos, J. M., Robles, R., & Alonso, M. E. (2020). Relationship between vitamin B12 and cobalt metabolism in domestic ruminant: An update. *Animals*, *10*(10), 1855. <https://doi.org/10.3390/ani10101855>
83. Govender, P., Opoku, F., Wahab, O., & Kiarri, E. (2021). *Molecular modelling of vitamin B12 and its analogues*. Jenny Stanford Publishing. <https://doi.org/10.1201/9781003213390>
84. Grădinaru, L., Crețu, M., Vizireanu, C., & Dediu, L. (2025). Oxidative stress biomarkers in fish exposed to environmental concentrations of

- pharmaceutical pollutants: A review. *Biology*, 14(5), 472. <https://doi.org/10.3390/biology14050472>
85. Grapentine, S., & Bakovic, M. (2019). Significance of bilayer-forming phospholipids for skeletal muscle insulin sensitivity and mitochondrial function. *Journal of biomedical research*, 34(1), 1–13. <https://doi.org/10.7555/JBR.33.20180104>
86. Green, R., Allen, L. H., Bjørke-Monsen, A.-L., Brito, A., Guéant, J.-L., Miller, J. W., Molloy, A. M., Nexø, E., Stabler, S., Toh, B.-H., Ueland, P. M., & Yajnik, C. (2017). Vitamin B12 deficiency. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40>
87. Gulik-Krzywicki T. Structural studies of the associations between biological membrane components. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*. 1975. Vol. 415, no. 1. P. 1–28. URL: [https://doi.org/10.1016/0304-4157\(75\)90015-5](https://doi.org/10.1016/0304-4157(75)90015-5)
88. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
89. Harayama, T., & Antonny, B. (2023). Beyond fluidity: The role of lipid unsaturation in membrane function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, a041409. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041409>
90. Haseeb, A., Fozia, Ahmad, I., Ullah, H., Iqbal, A., Ullah, R., Moharram, B. A., & Kowalczyk, A. (2022). Ecotoxicological assessment of heavy metal and its biochemical effect in fishes. *BioMed Research International*, 2022, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2022/3787838>
91. Hedayati, S. A., Sheikh Veisi, R., Hosseini Shekarabi, S. P., Shahbazi Naserabad, S., Bagheri, D., & Ghafarifarsani, H. (2021). Effect of dietary lactobacillus casei on physiometabolic responses and liver histopathology in common carp (cyprinus carpio) after exposure to iron oxide nanoparticles. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02906-9>

92. Helczman, M., Tomka, M., Arvay, J., Tvrdá, E., Andreji, J., Fik, M., Snirc, M., Jambor, T., Massanyi, P., & Kovacik, A. (2024). Selected micro- and macro-element associations with oxidative status markers in common carp (*Cyprinus carpio*) blood serum and ejaculate: A correlation study. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1–16. <https://doi.org/10.1080/15287394.2024.2406429>
93. Hossain, M. Z., Kaur, M., Cole, R. M., Fisher, K. J., & Barringer, S. (2026). Effect of Rearing Conditions on Growth, Fatty Acid Profile and Antioxidant Activity of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Animals*, 16(8), 1139. <https://doi.org/10.3390/ani16081139>
94. Husak, V. V., Mosiichuk, N. M., Maksymiv, I. V., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2016). Oxidative stress responses in gills of goldfish, *Carassius auratus*, exposed to the metribuzin-containing herbicide Sencor. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.05.028>
95. Huwait, E., Kumosani, T., Moselhy, S., Mosaoa, R., & Yaghmoor, S. (2015). Relationship between soil cobalt and vitamin B12 levels in the liver of livestock in Saudi Arabia: Role of competing elements in soils. *African Health Sciences*, 15(3), 993. <https://doi.org/10.4314/ahs.v15i3.38>
96. International Organization for Standardization. (1986). *Water quality – Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead – Flame atomic absorption spectrometric methods* (ISO 8288:1986). [https://www.iso.org/iso/iso\\_catalogue](https://www.iso.org/iso/iso_catalogue)
97. Islamy, R. A., Hasan, V., Kamarudin, A. S., Mamat, N. B., Valen, F. S. & Mutmainnah, N. (2025). Biomonitoring of heavy metal pollution in the Brantas River using genotoxic and histopathological biomarkers in wild cyprinidae. *Journal of Ecological Engineering*, 26(12), 1–11. <https://doi.org/10.12911/22998993/206050>
98. Javed, M., & Usmani, N. (2015). Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting

- river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi journal of biological sciences*, 22(2), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.09.021>
99. Jenkins, J. A., Musgrove, M., & White, S. J. O. (2023). Outlining potential biomarkers of exposure and effect to critical minerals: Nutritionally essential trace elements and the rare earth elements. *Toxics*, 11(2), 188. <https://doi.org/10.3390/toxics11020188>
100. Jenkins, J. A., Olivier, H. M., Draugelis-Dale, R. O., Eilts, B. E., Torres, L., Patiño, R., Nilsen, E., & Goodbred, S. L. (2014). Assessing reproductive and endocrine parameters in male largescale suckers (*Catostomus macrocheilus*) along a contaminant gradient in the lower Columbia River, USA. *Science of the Total Environment*, 484, 365–378. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.097>
101. Jin, G., Zhang, L., Ai, Q., Mai, K., & Chen, X. (2025). Interactive effects of salinity and dietary lipid sources on growth, hepatic lipid metabolism, and transcriptomic profiles in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *Frontiers in Physiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1655953>
102. Jones, A. R. (2017). The photochemistry and photobiology of vitamin B12. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 16(6), 820–834. <https://doi.org/10.1039/c7pp00054e>
103. Jovičić, K., Djikanović, V., Santrač, I., Živković, S., Dimitrijević, M., & Vranković, J. S. (2024). Effects of trace elements on the fatty acid composition in danubian fish species. *Animals*, 14(6), 954. <https://doi.org/10.3390/ani14060954>
104. Jovičić, K., Janković, S., Nikolić, D. M., Đikanović, V., Skorić, S., Krpo-Četković, J., & Jarić, I. (2023). Prospects of fish scale and fin samples usage for nonlethal monitoring of metal contamination: A study on five fish species from the Danube River. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, (424), 4. <https://doi.org/10.1051/kmae/2022027>

105. Karastogianni, S., & Girousi, S. (2021). Square wave voltammetric (SWV) determination of cyanocobalamin (vitamin B12) in pharmaceuticals and supplements on a carbon paste electrode (CPE) modified by a manganese(ii) polymeric film. *Analytical Letters*, 1–12. <https://doi.org/10.1080/00032719.2021.1937195>
106. Katalinic, V., Modun, D., Music, I., & Boban, M. (2005). Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(1), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.01.005>
107. Kates, M. (1972). *Techniques of lipidology: Isolation, analysis and identification of lipids*. North-Holland Publishing Company.
108. Kay, J. G., & Grinstein, S. (2013). Phosphatidylserine-mediated cellular signaling. In D. Capelluto (Ed.), *Lipid-mediated protein signaling* (Vol. 991, pp. 177–193). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6331-9\\_10](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6331-9_10)
109. Khan, S. A., & Ilies, M. A. (2023). The Phospholipase A2 Superfamily: Structure, Isozymes, Catalysis, Physiologic and Pathologic Roles. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1353. <https://doi.org/10.3390/ijms24021353>
110. Kocabaş, M., & Kutluyer, F. (2017). Effect of cobalt on sperm motility in an endangered trout species, salmo coruhensis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 99(6), 690–694. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2193-4>
111. Kovacik, A., Helczman, M., Arvay, J., Jambor, T., & Kovacikova, E. (2025). Toxic elements and fatty acid composition in the freshwater fish family Cyprinidae (Rafinesque 1815): Balancing nutritional benefits and health risks. *Environmental Monitoring and Assessment*, 197(6). <https://doi.org/10.1007/s10661-025-14112-4>

112. Kozyraki, R., & Cases, O. (2013). Vitamin B12 absorption: Mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie*, 95(5), 1002–1007. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2012.11.004>
113. Kräutler, B. (2012). Biochemistry of B12-cofactors in human metabolism. In O. Stanger (Ed.), *Water soluble vitamins* (pp. 323–346). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-2199-9\\_17](https://doi.org/10.1007/978-94-007-2199-9_17)
114. Kubrak, O. I., Rovenko, B. M., Husak, V. V., Vasylykiv, O. Y., Storey, K. B., Storey, J. M., & Lushchak, V. I. (2012). Goldfish exposure to cobalt enhances hemoglobin level and triggers tissue-specific elevation of antioxidant defenses in gills, heart and spleen. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology : CBP*, 155(2), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2011.09.012>
115. Kubrak, O. I., Husak, V. V., Rovenko, B. M., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2011). Cobalt-induced oxidative stress in brain, liver and kidney of goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 85(6), 983–989. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.078>
116. Kumar, S., Moniruzzaman, M., Chakraborty, A., Sarbajna, A., & Chakraborty, S. B. (2021). Crosstalk between heat shock proteins, NRF2, NF- $\kappa$ B and different endogenous antioxidants during lead-induced hepatotoxicity in *Puntius ticto*. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 233, 105771. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105771>
117. Kwong, R. W. M. (2024). Trace metals in the teleost fish gill: Biological roles, uptake regulation, and detoxification mechanisms. *Journal of Comparative Physiology B*. <https://doi.org/10.1007/s00360-024-01565-1>
118. Lall, S. P., & Kaushik, S. J. (2021). Nutrition and metabolism of minerals in fish. *Animals*, 11(9), Article 2711. <https://doi.org/10.3390/ani11092711>

119. Lau, O.-W., & Cheng, O.-M. (1998). Determination of zinc in environmental samples by anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 376(2), 197–207. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(98\)00531-5](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(98)00531-5)
120. Laurent, J., Le Grand, F., Bideau, A., Le Berre, I., Le Floch, S., Pichereau, V., & Laroche, J. (2025). Fatty acid analysis in an estuarine fish species to assess the health status of hydrosystems impacted by eutrophication and multistress. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 109279. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2025.109279>
121. Layglon, N., Creffield, S., Bakker, E., & Tercier-Waeber, M.-L. (2023). On-field high-resolution quantification of the cobalt fraction available for bio-uptake in natural waters using antifouling gel-integrated microelectrode arrays. *Marine Pollution Bulletin*, 189, 114807. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114807>
122. Lehel, J., Magyar, M., Palotás, P., Abonyi-Tóth, Z., Bartha, A., & Budai, P. (2023). To Eat or Not to Eat?—Food Safety Aspects of Essential Metals in Seafood. *Foods*, 12(22), 4082. <https://doi.org/10.3390/foods12224082>
123. Li, J., Yan, Y., & Xie, X. (2018). Tissue-Specific antioxidative responses and cadmium accumulation in silurus meridionalis under chronic waterborne cadmium exposure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(4), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2294-8>
124. Li, Z., Agellon, L. B., Allen, T. M., Umeda, M., Jewell, L., Mason, A., & Vance, D. E. (2006). The ratio of phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine influences membrane integrity and steatohepatitis. *Cell Metabolism*, 3(5), 321–331. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.03.007>
125. Lin, Y.-H., Wu, J.-Y., & Shiau, S.-Y. (2010). Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B12 in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, *Epinephelus*

93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.008>
126. Linhartová, Z., Krejsa, J., Zajíc, T., Másilko, J., Sampels, S., & Mráz, J. (2018). Proximate and fatty acid composition of 13 important freshwater fish species in central Europe. *Aquaculture International*, 26(2), 695–711. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0243-5>
127. Liu, X.-H., Pang, X., Jin, L., Pu, D.-Y., Wang, Z.-J., & Zhang, Y.-G. (2023). Exposure to acute waterborne cadmium caused severe damage on lipid metabolism of freshwater fish, revealed by nuclear lipid droplet deposition in hepatocytes of rare minnow. *Aquatic Toxicology*, 257, 106433. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106433>
128. Lordan, R., Tsoupras, A., & Zabetakis, I. (2017). Phospholipids of Animal and Marine Origin: Structure, Function, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules*, 22(11), 1964. <https://doi.org/10.3390/molecules22111964>
129. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
130. Łuczyńska, J., & Paszczyk, B. (2019). Health Risk Assessment of Heavy Metals and Lipid Quality Indexes in Freshwater Fish from Lakes of Warmia and Mazury Region, Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(19), 3780. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193780>
131. Łuczyńska, J., Paszczyk, B., Nowosad, J., & Łuczyński, M. (2017). Mercury, fatty acids content and lipid quality indexes in muscles of freshwater and marine fish on the polish market. risk assessment of fish consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(10), 1120. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101120>

132. Lushchak, V. I. (2015). Contaminant-induced oxidative stress in fish: A mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2), 711–747. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0171-5>
133. Ma, W., Zeng, W., Zhang, D., Zhou, Y., Huang, Y., & Hong, Y. (2025). Oxidative Stress in Aquaculture: Pathogenic Mechanisms and Preventive Strategies in Farmed Aquatic Animals. *Current Issues in Molecular Biology*, 47(11), 873. <https://doi.org/10.3390/cimb47110873>
134. Macirella, R., & Brunelli, E. (2017). Morphofunctional Alterations in Zebrafish (*Danio rerio*) Gills after Exposure to Mercury Chloride. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 824. <https://doi.org/10.3390/ijms18040824>
135. Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A., Al-Misned, F., Shahid, T., Sultana, S., Sultan, T., Hussain, B., & Ahmed, Z. (2019). Impact of water pollution on trophic transfer of fatty acids in fish, microalgae, and zoobenthos in the food web of a freshwater ecosystem. *Biomolecules*, 9(6), 231. <https://doi.org/10.3390/biom9060231>
136. Marques, H. M. (2023). The inorganic chemistry of the cobalt corrinoids – an update. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 112154. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112154>
137. Marques-da-Silva, D., & Lagoa, R. (2023). Rafting on the Evidence for Lipid Raft-like Domains as Hubs Triggering Environmental Toxicants' Cellular Effects. *Molecules*, 28(18), 6598. <https://doi.org/10.3390/molecules28186598>
138. Marr, J. C. A., Hansen, J. A., Meyer, J. S., Cacela, D., Podrabsky, T., Lipton, J., & Bergman, H. L. (1998). Toxicity of cobalt and copper to rainbow trout: Application of a mechanistic model for predicting survival. *Aquatic Toxicology*, 43(4), 225–238. [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(98\)00061-7](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(98)00061-7)
139. Mascarenhas, R., Gouda, H., Ruetz, M., & Banerjee, R. (2022). Human B12-dependent enzymes: Methionine synthase and methylmalonyl-CoA

- mutase. *Methods in Enzymology*, 668, 309–326. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2021.12.012>
140. Massoud, E., El-Kott, A., Morsy, K., & Abdel-Khalek, A. A. (2021). Assessment of hepatotoxicity induced by aluminum oxide nanoparticles in oreochromis niloticus using integrated biomarkers: Exposure and recovery. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106(6), 970–977. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03190-y>
141. Melvin, S. D., Lanctôt, C. M., Doriean, N. J. C., Bennett, W. W., & Carroll, A. R. (2019). NMR-based lipidomics of fish from a metal(loid) contaminated wetland show differences consistent with effects on cellular membranes and energy storage. *Science of the Total Environment*, 654, 284–291. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.113>
142. Mijošek, T., Filipović Marijić, V., Dragun, Z., Krasnići, N., Ivanković, D., Redžović, Z., & Erk, M. (2021). First insight in trace element distribution in the intestinal cytosol of two freshwater fish species challenged with moderate environmental contamination. *Science of the Total Environment*, 798, 149274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149274>
143. Mikkelsen, K., & Apostolopoulos, V. (2019). Vitamin B12, folic acid, and the immune system. In M. Mahmoudi & N. Rezaei (Eds.), *Nutrition and immunity* (pp. 103–114). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16073-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16073-9_6)
144. Moore, J. W., & Ramamoorthy, S. (1984). *Heavy metals in natural waters*. Springer.
145. Moore, S. J., Lawrence, A. D., Biedendieck, R., Deery, E., Frank, S., Howard, M. J., Rigby, S. E. J., & Warren, M. J. (2013). Elucidation of the anaerobic pathway for the corrin component of cobalamin (vitamin B12). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(37), 14906–14911. <https://doi.org/10.1073/pnas.1308098110>
146. Moussa, M. A., Mohamed, H. R. H., & Abdel-Khalek, A. A. (2022). 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*. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20804-y>
147. Murakami, C., Dilimulati, K., Atsuta-Tsunoda, K., Kawai, T., Inomata, S., Hijikata, Y., Sakai, H., & Sakane, F. (2024). Multiple activities of sphingomyelin synthase 2 generate saturated fatty acid- and/or monounsaturated fatty acid-containing diacylglycerol. *Journal of Biological Chemistry*, 107960. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107960>
148. Nasri, F., Heydarnejad, S., & Nematollahi, A. (2019). Sublethal cobalt toxicity effects on rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). *Croatian Journal of Fisheries*, 77(4), 243–252. <https://doi.org/10.2478/cjf-2019-0018>
149. Nechev, J., Stefanov, K., & Popov, S. (2006). Effect of cobalt ions on lipid and sterol metabolism in the marine invertebrates *Mytilus galloprovincialis* and *Actinia equina*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 144(1), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.022>
150. Nędzarek, A., Formicki, K., Kowalska-Góralaska, M., & Dobrzański, Z. (2022). Concentration and risk of contamination with trace elements in acipenserid and salmonid roe. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, 104525. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104525>
151. Oger, A., Toomey, L., Chary, A., Catteau, A., Fuster, L., Ledauphin, S., & Le Guernic, S. (2025). Exposure to cadmium, copper, and their mixture: Effects on the health of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Environmental Pollution*, 364, Article 126966. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.126966>
152. Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)

153. Oros, A. (2025). Bioaccumulation and trophic transfer of heavy metals in marine fish: Ecological and ecosystem-level impacts. *Journal of Xenobiotics*, *15*(2), 59. <https://doi.org/10.3390/jox15020059>
154. Osman, D., Cooke, A., Young, T. R., Deery, E., Robinson, N. J., & Warren, M. J. (2021). The requirement for cobalt in vitamin B12: A paradigm for protein metalation. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, *1868*(1), 118896. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118896>
155. Pane, E. F., Bucking, C., Patel, M., & Wood, C. M. (2005). Renal function in the freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following acute and prolonged exposure to waterborne nickel. *Aquatic Toxicology*, *72*(1-2), 119–133. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.11.020>
156. Pavel, C. D., Chițescu, C. L., Dragostin, O.-M., Dediu, L., Aprodu, I., Iacob, A. D., Vatecu, R., Zamfir, A.-S., & Zamfir, C. L. (2026). Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Effects of Methylxanthines in Adult Zebrafish Exposed to Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs). *Medicina*, *62*(1), 21. <https://doi.org/10.3390/medicina62010021>
157. Peng, K. Y., Barlow, C. K., Kammoun, H., Mellett, N. A., Weir, J. M., Murphy, A. J., Febbraio, M. A., & Meikle, P. J. (2021). Stable Isotopic Tracer Phospholipidomics Reveals Contributions of Key Phospholipid Biosynthetic Pathways to Low Hepatocyte Phosphatidylcholine to Phosphatidylethanolamine Ratio Induced by Free Fatty Acids. *Metabolites*, *11*(3), 188. <https://doi.org/10.3390/metabo11030188>
158. Pinna, M., Zangaro, F., Saccomanno, B., Scalone, C., Bozzeda, F., Fanini, L., & Specchia, V. (2023). An overview of ecological indicators of fish to evaluate the anthropogenic pressures in aquatic ecosystems: From traditional to innovative dna-based approaches. *Water*, *15*(5), 949. <https://doi.org/10.3390/w15050949>
159. Pöhl, M., Trollmann, M. F. W., & Böckmann, R. A. (2023). Nonuniversal impact of cholesterol on membranes mobility, curvature

- sensing and elasticity. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43892-x>
160. Poorani, R., Bhatt, A. N., Dwarakanath, B. S., & Das, U. N. (2016). COX-2, aspirin and metabolism of arachidonic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their physiological and clinical significance. *European Journal of Pharmacology*, 785, 116–132. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.08.049>
161. Qi, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Luo, F., Song, K., Wang, G., & Ling, F. (2023). Vitamin B<sub>12</sub> produced by *Cetobacterium somerae* improves host resistance against pathogen infection through strengthening the interactions within gut microbiota. *Microbiome*, 11(1), 135. <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01574-2>
162. Qiu, H., Jin, M., Li, Y., Lu, Y., Hou, Y., & Zhou, Q. (2017). Dietary lipid sources influence fatty acid composition in tissue of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) by regulating triacylglycerol synthesis and catabolism at the transcriptional level. *Plos One*, 12(1), Стаття e0169985. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169985>
163. Rajeshkumar, S., & Li, X. (2018). Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Toxicology Reports*, 5, 288–295. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.01.007>
164. Rajeshkumar, S., Liu, Y., Zhang, X., Ravikumar, B., Bai, G., & Li, X. (2018). Studies on seasonal pollution of heavy metals in water, sediment, fish and oyster from the Meiliang Bay of Taihu Lake in China. *Chemosphere*, 191, 626–638. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.078>
165. Robea, M. A., Ilie, O. D., Nicoara, M. N., Solcan, G., Romila, L. E., Ureche, D., & Ciobica, A. (2024). Vitamin B<sub>12</sub> ameliorates pesticide-induced sociability impairment in zebrafish (*Danio rerio*): A prospective controlled intervention study. *Animals*, 14(3), 405. <https://doi.org/10.3390/ani14030405>
166. Roma, J., Feijão, E., Vinagre, C., Duarte, B., & Matos, A. R. (2022). Impacts of dissolved Zn and nanoparticle forms in the fatty acid landscape of

- Mytilus galloprovincialis*. *Science of the Total Environment*, 817, 152807. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152807>
167. Saili, K. S., Cardwell, A. S., & Stubblefield, W. A. (2021). Chronic toxicity of cobalt to marine organisms: Application of a species sensitivity distribution approach to develop international water quality standards. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(5), 1405–1418. <https://doi.org/10.1002/etc.4993>
168. Santos, A. L., & Preta, G. (2018). Lipids in the cell: Organisation regulates function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(11), 1909–1927. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2765-4>
169. Saputri, M., Yusraini, Y., Sara, L., Widowati, I., Guyot, T., Fichet, D., & Radenac, G. (2023). Multi-year monitoring of the toxicological risk of heavy metals related to fish consumption by the population of the Kendari Region (Southeast Sulawesi, Indonesia). *Toxics*, 11(7), 592. <https://doi.org/10.3390/toxics11070592>
170. Sauliūtė, G., Markuckas, A., & Stankevičiūtė, M. (2020). 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*, 29(3), 258–274. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02170-y>
171. Savassi, L. A., Arantes, F. P., Gomes, M. V. T., & Bazzoli, N. (2016). Heavy metals and histopathological alterations in *salminus franciscanus* (lima & britski, 2007) (pisces: Characiformes) in the paraopeba river, minas gerais, brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 96(4), 478–483. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1732-8>
172. Schlekat, C., Stubblefield, W., & Gallagher, K. (2020). State of the science on metal bioavailability modeling: Introduction to the outcome of a society of environmental toxicology and chemistry technical workshop. *Environmental toxicology and chemistry*, 39(1), 42–47. <https://doi.org/10.1002/etc.4561>

173. Scott, E. R. D. (2020). Iron meteorites: Composition, age, and origin. In *Oxford Research Encyclopedia of Planetary Science*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190647926.013.206>
174. Shahjahan, M., Taslima, K., Rahman, M. S., Al-Emran, M., Alam, S. I., & Faggio, C. (2022). Effects of heavy metals on fish physiology – A review. *Chemosphere*, 300, 134519. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134519>
175. Shalini, R., Jeyasekaran, G., Shakila, R. J., & Arisekar, U. (2020). Trace element concentrations in the organs of fish along the southeast coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, 111817. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111817>
176. Sharma, A., Arya, S., Chauhan, D., Solanki, P. R., Khajuria, S., & Khosla, A. (2020). Synthesis of Au–SnO<sub>2</sub> nanoparticles for electrochemical determination of vitamin B12. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(6), 14321–14337. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.10.024>
177. Silva, C. O., Simões, T., Novais, S. C., Pimparel, I., Granada, L., Soares, A. M. V. M., Barata, C., & Lemos, M. F. L. (2017). Fatty acid profile of the sea snail *Gibbula umbilicalis* as a biomarker for coastal metal pollution. *Science of the Total Environment*, 586, 542–550. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.015>
178. Slotte, J. P. (2013). Biological functions of sphingomyelins. *Progress in Lipid Research*, 52(4), 424–437. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.05.001>
179. Somerharju, P., Virtanen, J. A., & Cheng, K. H. (1999). Lateral organisation of membrane lipids. The superlattice view. *Biochimica et biophysica acta*, 1440(1), 32–48. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(99\)00106-7](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(99)00106-7)
180. Stasiuk, R., Krucoń, T., & Matlakowska, R. (2021). Biosynthesis of Tetrapyrrole Cofactors by Bacterial Community Inhabiting Porphyrine-

- Containing Shale Rock (Fore-Sudetic Monocline). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(21), 6746. <https://doi.org/10.3390/molecules26216746>
181. Strandberg, U., Palviainen, M., Eronen, A., Piirainen, S., Laurén, A., Akkanen, J., & Kankaala, P. (2016). Spatial variability of mercury and polyunsaturated fatty acids in the European perch (*Perca fluviatilis*) – Implications for risk-benefit analyses of fish consumption. *Environmental Pollution*, 219, 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.050>
182. Stubblefield, W. A., Van Genderen, E., Cardwell, A. S., Heijerick, D. G., Janssen, C. R., & De Schampelaere, K. A. C. (2020). Acute and chronic toxicity of cobalt to freshwater organisms: Using a species sensitivity distribution approach to establish international water quality standards. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(4), 799–811. <https://doi.org/10.1002/etc.4662>
183. Sule, K., Anikovskiy, M., & Prenner, E. J. (2023). Lipid structure determines the differential impact of single metal additions and binary mixtures of manganese, calcium and magnesium on membrane fluidity and liposome size. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1066. <https://doi.org/10.3390/ijms24021066>
184. Sule, K., Umbsaar, J., & Prenner, E. J. (2020). Mechanisms of Co, Ni, and Mn toxicity: From exposure and homeostasis to their interactions with and impact on lipids and biomembranes. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1862(8), 183250. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2020.183250>
185. Suleimanova R. R., Hudz E. A., Melnychuk D. O., Kalachniuk L. H. Age-related changes phospholipids of sterlet in liver and dorsal muscles. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2017. Vol. 89, N 1. P. 71–75. URL: <https://doi.org/10.15407/ubj89.01.071>
186. Sun, C., Holstein, D. J. F., Garcia-Cubero, N., Moulla, Y., Stroh, C., Dietrich, A., Schön, M. R., Gärtner, D., Lohmann, T., Dressler, M., Stumvoll, M., Blüher, M., Kovacs, P., & Guiu-Jurado, E. (2023). The Role of

- Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase (*PEMT*) and Its Waist-Hip-Ratio-Associated Locus rs4646404 in Obesity-Related Metabolic Traits and Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23), 16850. <https://doi.org/10.3390/ijms242316850>
187. Sun, Z., Gong, C., Ren, J., Zhang, X., Wang, G., Liu, Y., Ren, Y., Zhao, Y., Yu, Q., Wang, Y., & Hou, J. (2020). Toxicity of nickel and cobalt in Japanese flounder. *Environmental Pollution*, 263, 114516. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114516>
188. Suzuki, R., Murakami, C., Dilimulati, K., Atsuta-Tsunoda, K., Kawai, T., & Sakane, F. (2023). Human sphingomyelin synthase 1 generates diacylglycerol in the presence and absence of ceramide via multiple enzymatic activities. *FEBS Letters*. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14735>
189. Tan, Z., Deng, L., Jiang, Z., Xiang, G., Zhang, G., He, S., Zhang, H., & Wang, Y. (2024). Selenium nanoparticles attenuate cobalt nanoparticle-induced skeletal muscle injury: A study based on myoblasts and zebrafish. *Toxics*, 12(2), 130. <https://doi.org/10.3390/toxics12020130>
190. Tang, P. A., Ruiz-Pastor, M. J., Lewis, A. E., Fladmark, K. E., Kobro-Flatmoen, A., Halskau, Ø., & Lal, P. (2026). Cetoleic acid and other long-chain unsaturated fatty acids as neuroprotective nutraceuticals. *Lipids in health and disease*, 25(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12944-026-02876-8>
191. Tocher, D. R., Bendiksen, E. Å., Campbell, P. J., & Bell, J. G. (2008). The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280(1-4), 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.034>
192. Toda, M. J., Lodowski, P., Mamun, A. A., Jaworska, M., & Kozłowski, P. M. (2019). Photolytic properties of the biologically active forms of vitamin B12. *Coordination Chemistry Reviews*, 385, 20–43. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.12.017>
193. Tolas, I., Zhou, Z., Zhang, Z., Teame, T., Olsen, R. E., Ringø, E., & Rønnestad, I. (2025). A fishy gut feeling – current knowledge on gut

- microbiota in teleosts. *Frontiers in Marine Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1495373>
194. Turan, F., Eken, M., Ozyilmaz, G., Karan, S., & Uluca, H. (2020). Heavy metal bioaccumulation, oxidative stress and genotoxicity in African catfish *Clarias gariepinus* from Orontes river. *Ecotoxicology*, 29(9), 1522–1537. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02253-w>
195. Ture, M., Kilic, M. B., & Altinok, I. (2020). Relationship between heavy metal accumulation in fish muscle and heavy metal resistance genes in bacteria isolated from fish. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02246-0>
196. Turkmen, S., Perera, E., Zamorano, M. J., Simó-Mirabet, P., Xu, H., Pérez-Sánchez, J., & Izquierdo, M. (2019). Effects of Dietary Lipid Composition and Fatty Acid Desaturase 2 Expression in Broodstock Gilthead Sea Bream on Lipid Metabolism-Related Genes and Methylation of the *fads2* Gene Promoter in Their Offspring. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(24), 6250. <https://doi.org/10.3390/ijms20246250>
197. U.S. Environmental Protection Agency. (1994). *Methods for the determination of metals in environmental samples, supplement 1* (Report No. EPA-600/R-94-111). <https://is.gd/PeOcmO>
198. Vaskovsky, V. E., & Kastetsky, E. V. (1985). A universal reagent for fosfolipid analisis. *Journal of Chromatography*, 144, 129–141.
199. Velma, V., & Tchounwou, P. B. (2010). Chromium-induced biochemical, genotoxic and histopathologic effects in liver and kidney of goldfish, *carassius auratus*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 698(1-2), 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.03.014>
200. Vieira, A. F. C., Xatse, M. A., Murray, S. Y., & Olsen, C. P. (2023). Oleic acid metabolism in response to glucose in *C. elegans*. *Metabolites*, 13(12), 1185. <https://doi.org/10.3390/metabo13121185>

201. Vovchek, N. O., Markiv, V. S., Khomenchuk, V. O., & Kurant, V. Z. (2025). Fractional composition of blood serum proteins of freshwater fishes under the cobalt ions impact. *Hydrobiological Journal*, *61*(3), 83–90. <https://doi.org/10.1615/hydrobj.v61.i3.60>
202. Wang, B., & Tontonoz, P. (2019). Phospholipid Remodeling in Physiology and Disease. *Annual review of physiology*, *81*, 165–188. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114444>
203. Wang, C., Gong, Y., Deng, F., Liu, X., Ding, E., Zhang, S., Ma, X., Raine, J., Jones, P. D., Tang, S., & Giesy, J. P. (2024). Lipid remodeling during early development of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports*, *35*, 102005. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102005>
204. Weber, P., Behr, E. R., Knorr, C. D. L., Vendruscolo, D. S., Flores, E. M. M., Dressler, V. L., & Baldisserotto, B. (2013). Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchemical Journal*, *106*, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.05.004>
205. Wei, X., Hogstrand, C., Chen, G., Lv, W., Song, Y., Xu, Y., & Luo, Z. (2021). Zn induces lipophagy via the deacetylation of beclin1 and alleviates cu-induced lipotoxicity at their environmentally relevant concentrations. *Environmental Science & Technology*, *55*(8), 4943–4953. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c08609>
206. Werner, C., Otte, K. A., & von Elert, E. (2021). Phenotypic convergence in a natural *Daphnia* population acclimated to low temperature. *Ecology and evolution*, *11*(21), 15312–15324. <https://doi.org/10.1002/ece3.8217>
207. Wu, M., Miao, J., Li, Y., Wu, J., Wang, G., Zhang, D., & Pan, L. (2022). Impact of P-Chloroaniline on Oxidative Stress and Biomacromolecules Damage in the Clam *Ruditapes philippinarums*: A Simulate Toxicity Test of Spill Incident. *International Journal of*

- Environmental Research and Public Health*, 19(9), 5092.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph19095092>
208. Xie, X., Zhang, C., Zulfahmi, I., Mbokane, E., & Cao, Q. (2026). Fatty Liver in Fish: Metabolic Drivers, Molecular Pathways and Physiological Solutions. *Animals : an open access journal from MDPI*, 16(2), 236.  
<https://doi.org/10.3390/ani16020236>
209. Yaginuma, S., Omi, J., Kano, K., & Aoki, J. (2023). Lysophospholipids and their producing enzymes: Their pathological roles and potential as pathological biomarkers. *Pharmacology & Therapeutics*, 108415. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108415>
210. Yang, A., & Mottillo, E. P. (2020). Adipocyte lipolysis: from molecular mechanisms of regulation to disease and therapeutics. *Biochemical Journal*, 477(5), 985–1008. <https://doi.org/10.1042/bcj20190468>
211. Yang, X., Sheng, W., Sun, G. Y., & Lee, J. C. M. (2011). Effects of fatty acid unsaturation numbers on membrane fluidity and  $\alpha$ -secretase-dependent amyloid precursor protein processing. *Neurochemistry International*, 58(3), 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.004>
212. Yin, H., Xu, L., & Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, 111(10), 5944–5972.  
<https://doi.org/10.1021/cr200084z>
213. Zaghloul, G. Y., Eissa, H. A., Zaghloul, A. Y., Kelany, M. S., Hamed, M. A., & Moselhy, K. M. E. (2024). Impact of some heavy metal accumulation in different organs on fish quality from Bardawil Lake and human health risks assessment. *Geochemical Transactions*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12932-023-00084-2>
214. Zeitoun, M. M., & El-Sayed, E. (2014). Impact of water pollution with heavy metals on fish health: Overview and updates. *Global Veterinaria*, 12(2), 219–231.
215. Zhang, Q., Xie, Y., Qin, R., Huang, E., Zhang, Z., Zhou, J., Liu, D., Meng, L., Liu, Y., & Tong, T. (2024). Effects of cadmium on the growth,

- muscle composition, digestion, gene expression of antioxidant and lipid metabolism in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Frontiers in Marine Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1443484>
216. Zhang, X., Ning, X., He, X., Sun, X., Yu, X., Cheng, Y., Yu, R.-Q., & Wu, Y. (2020). Fatty acid composition analyses of commercially important fish species from the Pearl River Estuary, China. *Plos One*, 15(1), Стаття e0228276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228276>
217. Zhang, Y., Li, Q., Dong, M., & Han, X. (2020). Effect of cholesterol on the fluidity of supported lipid bilayers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 196, 111353. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111353>
218. Zimmer, A. M., Brix, K. V., & Wood, C. M. (2018). Mechanisms of Ca<sup>2+</sup> uptake in freshwater and seawater-acclimated killifish, *Fundulus heteroclitus*, and their response to acute salinity transfer. *Journal of Comparative Physiology B*, 189(1), 47–60. <https://doi.org/10.1007/s00360-018-1192-z>