

## ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Поморцевої Наталії Анатоліївни

«Гематологічні показники риб у водоймах з різним рівнем радіонуклідного забруднення», що захищається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.10 – іхтіологія

*Актуальність обраної теми.* Дисертаційна робота Поморцевої Наталії Анатоліївни «Гематологічні показники риб у водоймах з різним рівнем радіонуклідного забруднення» присвячена актуальній проблемі – з'ясуванню розвитку радіаційно-індукованих порушень складу крові риб. Результати радіоекологічних досліджень водойм у Чорнобильській зоні відчуження свідчать про переважне накопичення і подальший перерозподіл тривалоіснуючих радіонуклідів ( $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{137}\text{Cs}$  та ін.) в абіотичних (зависі та донні відклади) і біотичних компонентах гідроекосистем внутрішніх водойм, у яких важливу роль, насамперед трофічну, відіграють представники іхтіофауни. Радіонуклідне забруднення водойм викликає ушкодження різної складності на морфологічному, фізіологічному та метаболічному і молекулярно-генетичному рівнях організації гідробіонтів, серед яких одними найбільш радіаційно-уразливих є риби. Кровотворна система риб виявляє високу чутливість до дії радіаційного чинника, впливаючи через фізіологічно-функціональні системи на життєздатність, забезпечення реалізації життєвого циклу, популяційну радіорезистентність та продуктивність риб, що зумовлює високу актуальність досліджень такого спрямування і змісту.

*Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.* Дисертаційна робота виконана у відділі водної радіоекології Інституту гідробіології НАН України в рамках наступних тем: «Порівняльний аналіз закономірностей міграції техногенних радіонуклідів у великих водних екосистемах Сибіру, Уралу та України на прикладі ріки Єнісей, Об-Іртишської річкової системи та водойм Чорнобильської зони відчуження»

(2006–2008 pp., № державної реєстрації 0207U006868); «Формування доз опромінення та порушення у представників біогідроценозів за умов радіонуклідного забруднення водних екосистем» (2006–2010 pp., № державної реєстрації 0106UA02149); «Особливості функціонування та відновлення прісноводних екосистем в умовах комплексного впливу атомних електростанцій» (2011–2015 pp., № державної реєстрації 0111U000076); “Transfer – Exposure – Effects (TREE): Integrating the science needed to underpin radioactivity for humans and wildlife (Ref: NE/000393/1), funded by the Natural Environment Research Council, United Kingdom (2014–2016 pp. № державної реєстрації 0114U005431); «Віддалені наслідки радіонуклідного забруднення водойм на біологічні системи різного рівня організації» (2016–2020 pp., № державної реєстрації 0116U002118).

*Новизна дослідження та одержаних результатів.* У результаті дисертаційного дослідження вперше з’ясовано особливості радіонуклідного забруднення та оцінено потужність поглиненої дози (ППД) йонізуючого опромінення для краснопірки звичайної (*Scardinius erythrophthalmus* L.), плітки звичайної (*Rutilus rutilus* L.), окуня звичайного (*Perca fluviatilis* L.) і карася сріблястого (*Carassius gibelio* Bloch) у водоймах Чорнобильської зони відчуження. Встановлено зміни лейкоцитарної формули, порушення еритроцитів периферійної крові риб і гемопоез в умовах тривалого природного та додаткового гострого опромінення. У крові краснопірки, плітки, окуня і карася сріблястого лінійно знижувалась кількість лімфоцитів і збільшувалась кількість клітин гранулоцитарного ряду відносно загальної кількості клітин у риб контрольної вибірки у відповідності з градієнтом зростання потужності поглиненої дози.

Знайшли розвиток положення про те, що у риб з водойм ЧЗВ відбулися зміни в еритроцитах крові риб – чисельні структурні порушення клітин червоної крові, а також порушення, пов’язані з патологією мітотичного поділу: деформація ядер, пікноз, пристінкові ядра, цитоліз, мікроядра тощо. Збільшення кількості структурних пошкоджень

еритроцитів і порушень, пов'язаних з патологією мітотичного поділу, з підвищенням потужності поглинутої дози для всіх видів досліджених риб було додозалежним.

Виявлено адаптивну стійкість клітин лейкоцитарної і тромбоцитарної ланок периферійної крові риб, які мешкають в умовах хронічного впливу йонізуючого опромінення, до додаткового радіаційного впливу у експерименті, на відміну від риб референтної водойми.

Отже, результати дисертаційної роботи сприяють вирішенню важливої наукової проблеми, яка полягає у встановленні стану (структура і функції) радіаційно-вразливих складових кров'яних клітин риб різних видів, які мешкають у радіаційно-навантажених водоймах порівняно з представниками з референтної території.

Науковий рівень роботи визнано таким, що відповідає вимогам МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.

*Практичне значення результатів дослідження.* Отримані в дисертаційній роботі експериментальні дані дозволяють розширити наявні уявлення про фонові впливи йонізуючого опромінення на гематологічні та цитогенетичні показники крові риб, що є необхідним для розроблення прогнозів подальших негативних наслідків хронічного впливу йонізуючого опромінення на іхтіофауну. Досліджені види риб можуть бути використані для екологічного нормування та рекомендацій для провадження рибальства і рибництва. Результати роботи можуть бути використані для підготовки фахівців біологічного, екологічного, ветеринарного профілів у закладах освіти.

*Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.* Дисертанткою відповідно до мети дослідження сформульовані завдання, підібрано експериментальні моделі та адекватні методики дослідження (гідробіологічні і радіоекологічні методи польових досліджень; радіохімічні і

спектрометричні методи визначення питомої активності радіонуклідів в абіотичних та біотичних компонентах водних екосистем; інструментальні, математичні і комп'ютерні методи розрахунку потужність поглинутої дози внутрішнього і зовнішнього йонізуючого опромінення; цитогенетичні методи порушень у клітинах крові; морфологічні методи реєстрації частоти структурних порушень еритроцитів; математичні та статистичні методи аналізу отриманих результатів), адекватно обрано експериментальні площадки, що дозволило отримати інформативні дані.

Достатній для обґрунтування обсяг експериментальних досліджень після статистичної обробки матеріалу послужив підставою для переконливих висновків дисертації.

Отже, дисертаційна робота Поморцевої Н.А. є самостійною науково-дослідною роботою, яка виконана на сучасному методичному рівні і достатньому експериментальному матеріалі.

*Повнота викладення основних результатів дисертаційних досліджень.*

Результати дисертаційного дослідження висвітлено у 60 наукових роботах, з яких: 11 – статті у фахових наукових журналах, 2 – патенти України на корисну модель, 47 – матеріали конференцій та короткі повідомлення у фахових та міжнародних наукових виданнях..

*Обсяг і структура дисертації.* Дисертація має обсяг у 202 сторінки друкованого тексту, складається із анотації, вступу, аналітичного огляду літератури, опису об'єктів та методів досліджень, трьох розділів з результатами власних досліджень, узагальнення, висновків, списку використаної фахової літератури та додатку. Список використаних літературних джерел налічує 212 назв, у тому числі 52 латиною. Текст ілюстровано 56 рисунками і 26 таблицями..

*Вступ* відображає суть роботи, її завдання, включає обґрунтування актуальності, наукової новизни, практичного значення отриманих результатів.

*Розділ 1* – аналітичний огляд літератури (с. 29-49) – «Радіонуклідне забруднення водних екосистем та його вплив на біологічні показники риб» присвячено критичному аналізу даних та сучасних поглядів на стан досліджень складу і рівня радіаційно-небезпечних для гідробіонтів компонентів водом і їх впливу на кровотворення і морфологію формених

елементів у тварин, насамперед, риб. Акцентовано увагу на усталене сучасне уявлення про те, що головним ефектом впливу великих доз радіації на кров є гемоліз еритроцитів, а малих – модифікація еритропоезу. Із змісту розділу, в цілому, стають зрозумілими прогалини з проблеми і, відповідно, витікають завдання дослідження з розглядуваної тематики, проте їх варто було окреслити окремо в кінці розділу.

*Розділ 2 - Матеріали та методи дослідження (с. 49-66).* Робота виконана на достатньому методичному та технічному рівнях, з використанням сучасних методик збору матеріалу та обладнання, які цілком відповідають завданням дослідження. В цьому розділі охарактеризовано фізико-географічні та гідрохімічні умови водойм, з яких вилучено риб для досліджень. Методики викладені чітко, детально, що свідчить про повне розуміння авторкою процесу їх опрацювання і реалізації. Авторка наводить характеристику методів дослідження: польові та лабораторні. Здійснена систематизація, аналіз, статистична обробка. Статистичну обробку результатів здійснювали методами основної статистики (описова статистика, часткова кореляція, t-критерій Стьюдента), тощо. Однак, варто було деталізувати інформацію про хімічний, насамперед токсикологічний, стан референтних водойм.

*Розділ 3 «Радіонуклідне забруднення риб та потужність поглиненої дози йонізувального опромінення» (с. 67-76)* присвячений опису питомої активності радіонуклідів у дослідних та референтних водоймах упродовж 2011-2017 рр. досліджень та потужності поглиненої дози йонізувального опромінення рибами, що само по собі за обсягом робить отримані дані унікальними як для цього дослідження, так і для ретроспективи радіаційних спостережень постчорнобильського періоду. Визначено частку вкладу в йонізувальний фон основних радіонуклідів водойм: внесок  $^{137}\text{Cs}$  у внутрішню ППД за рахунок інкорпорованої у тканинах компоненти становить 10–40%; за рахунок інкорпорованого у тканинах  $^{90}\text{Sr}$  у непроточних водоймах формується близько 60–90% внутрішньої ППД опромінення риб, що дало право стверджувати, що нині  $^{90}\text{Sr}$  є головним радіонуклідом, який формує внутрішню дозу опромінення риб у

непроточних водоймах ЧЗВ. Це є головним підсумком цього розділу досліджень.

*Розділ 4 «Оцінка впливу тривалого йонізуючого опромінення на гематологічні показники риб в умовах водойм чорнобильської зони відчуження» (с. 77-113).* Показано, що лімфоцити порівняно з гранулоцитами, як і у теплокровних тварин, відрізняються вкрай високою радіочутливістю і впливом йонізуючого випромінювання. Індуковане опроміненням зниження кількості лімфоцитів периферійної крові, скоріш за все, є однією з причин дестабілізації динамічної рівноваги між окремими пулами лейкоцитів. Представлено показники лейкограм, залежність відносної кількості лімфоцитів і гранулоцитів в периферійній крові від потужності поглиненої дози та зафіксовані (фотографічно) деструктивні форми лейкоцитів у риб всіх досліджених видів: краснопірки, плітки, окуня і карася сріблястого. Дослідження лейкоцитарного складу периферійної крові різних видів риб з водойм ЧЗВ дозволило встановити суттєві відмінності клітинного складу лейкоцитів порівняно з рибами референтних водойм. Основну частину лейкоцитів крові краснопірки, плітки, окуня і карася сріблястого складають лімфоцити, нейтрофіли, псевдоеозинофіли, псевдобазофіли, моноцити і бластні клітини. Крім того, у складі лейкоцитів краснопірки, плітки і карася сріблястого у водоймах ЧЗВ виявлені пінисті клітини. Встановлено характерну зміну співвідношення лейкоцитів при хронічному опроміненні – зі збільшенням потужності поглиненої дози частка лімфоцитів знижується, а моноцитів і гранулоцитів – збільшується. Проте реакція у кожного з досліджених видів різна за хронічного опромінення. Дослідження крові риб з водойми-охолоджувача ЧАЕС, яка характеризується переважним вмістом  $^{137}\text{Cs}$  в усіх біотичних компонентах екосистеми, показало збільшення загальної кількості лейкоцитів на 6,4% у окуня та на 10,5% у плітки щодо умовного контролю, що свідчить про

вибіркову факторіальну (до  $^{137}\text{Cs}$ ) та видоспецифічну реакцію кровотворної системи у цих видів риб.

У п.р. 4.2. «Морфологічні порушення еритроцитів у периферійній крові риб» охарактеризовано патоморфологічні аспекти йонізувального опромінення на еритроцити риб досліджених видів. Виявлено збільшення порушень у результаті патології мітозу з підвищенням ППД для всіх досліджених видів риб, що мало дозо-залежний характер. Показано збільшення структурних порушень еритроцитів з підвищенням ППД практично для всіх видів риб, що носило достовірний дозо-залежний характер, зростаючи за максимальних дозових навантажень у 17, 18,3, 2,1 й 11,2 рази, відповідно, для краснопірки, плітки, окуня і карася сріблястого порівняно з рибами з референтних водойм. Кількість патоморфологічних порушень еритроцитів у периферійній крові риб з водойм ЧЗВ у середньому була у 4,2 рази вищою порівняно з показниками риб з референтних водойм.

*Розділ 5 «Оцінка впливу додаткового гострого опромінення на показники периферійної крові та кровотворних органів карася сріблястого з чорнобильської зони відчуження» (с. 114-160).* На основі того факту, що біота у водоймах ЧЗВ більше 30 років зазнає хронічного радіаційного впливу, однак навіть за відносно високих рівнів радіонуклідного забруднення не спостерігається масової загибелі представників біоти або відмирання найбільш чутливих до дії йонізувального випромінювання видів, зокрема риб, авторка припускає, що тривале проживання риб в умовах підвищеного рівня радіаційного опромінення супроводжується природним відбором, в результаті якого залишаються найбільш радіорезистентні особини, що дають відповідне потомство. У результаті експериментального дослідження оцінена ефективність додаткового гострого опромінення у риб, які зазнають тривалого радіаційного впливу в умовах водойм ЧЗВ, та його порівняння з рибами водойм з фоновими рівнями радіонуклідного забруднення. Вже на першу добу після додаткового опромінення виявлено ефект безпосереднього пошкодження клітин крові в момент опромінення, спостерігали присутність максимальної кількості клітин з структурними

порушеннями (цитоліз, пікноз, вакуолізована цитоплазма і деформація ядра) за мінімальної дози опромінення 2,5 Гр. У карася відзначений дозо-залежний ефект – зі збільшенням дози опромінення спостерігали підвищення кількості деструктивних клітин еритроцитів.

На 7-му добу спостережень відзначено достовірне збільшення клітин крові з порушеннями в результаті патології мітозу – амітозом, перегородкою в ядрі еритроцита, а також еритроцитів зі структурними порушеннями. Відзначена пряма дозова залежність для таких порушень, як деформація ядра і амітоз.

На 30 добу після гострого йонізуючого опромінення виявлено формування фази відновлення, що розвивається повільно, з внутрішніми флуктуаціями процесу і характеризується початком репуляції кровотворних органів. У риб, опромінених у дозі 10,0 Гр, на 30 добу вперше за час проведення експерименту були зареєстровані поліплоїдні клітини. Додаткове опромінення в сублетальних дозах для риб викликало збільшення частоти еритроцитів з міроядрами, які свідчать про порушення в геномі еритроцитів і порушення їх функціональної активності.

Щодо еритропоезу, то на 30 добу спостережень відновлення процесу еритропоезу був близьким до вихідних даних при опроміненні у дозі 10,0 Гр. Для риб, опромінених у дозі 2,5 Гр, кількість молодих еритроїдних клітин збільшилася у 4 рази, у дозі 5,0 Гр – 40 разів, однак, менше, ніж в контролі. Тобто, при відносно малих дозах опромінення карася звичайного швидкість відновлення еритропоезу відбувається дуже повільно.

Експеримент засвідчив, що додаткове гостре опромінення у дозі 2,5, 5,0 і 10,0 Гр призвело до посилення еритропоезу у риб, однак подовження його тривалості. Проте, при опроміненні у дозі 10,0 Гр, процеси відновлення еритропоезу посилювалися вже на 7 добу експерименту.

Щодо лейкопоезу, то результати експерименту свідчать про відносно швидке відновлення лімфоцитів і лейкоцитів у периферійній крові риб як референтної, так і дослідної, водойм за додаткового опромінення у діапазоні доз 2,5–5,0 Гр.



Загалом, віддалені порушення процесів кровотворення після одноразового сублетального радіаційного впливу є достатніми для проліферативної активності органів гемопоезу і забезпечення нормального клітинного складу крові.

В *підрозділі 5.2 «Зміни гематологічних показників крові нирок»* встановлено, що лейкоцитарна формула крові нирок риб на першу добу після додаткового опромінення змінюється збільшенням бластних форм клітин крові майже у 2 рази. Швидкість відновлення кількості лейкоцитів на сьому добу проходила практично на одному рівні при дозі додаткового опромінення 2,5 і 5,0 Гр, і, в середньому, збільшилася у нирках у 1,1–1,3 рази. Наприкінці експерименту кількість лейкоцитів у нирках риб продовжувала збільшуватися, але з уповільненою швидкістю. Аналіз лейкоцитарної формули периферійної крові риб показав, що додаткове гостре опромінення призводило до перерозподілу формених елементів крові, бо реєстрували загальне зниження частки лімфоцитів для всіх дозових навантажень упродовж 30 діб експерименту – у 1,2-1,3 рази; моноцитів – у 1,9 - 3,1 рази, а також збільшення частки гранулоцитів – у 2,1-3,6 рази.

На основі цих результатів досліджень авторка робить узагальнення, що лейкоцитарна і тромбоцитарна фракція крові риб, які мешкають у водоймах ЧЗВ, виявляють більшу стійкість до додаткового опромінення, на відміну риб референтної водойми. Певна внутрішня флуктуаційність динаміки показників морфо-функціонального стану риб у часі розглядається як динамічність у протіканні адаптивного процесу як результат несформованості стійких адаптацій (незавершеності адаптаційного процесу) в даний період існування риб досліджених популяцій.

Аналіз одержаних дисертанткою результатів порівняно з літературними відомостями здійснено в процесі представлення експериментального матеріалу та його аналізу в кінці кожного розділу

експериментальних досліджень та у п.р. «Заключення» (с. 161-166). Авторка у результаті експериментальних досліджень приходять до висновку, що гематологічні дослідження чотирьох видів риб, які мешкають у градієнті хронічного радіонуклідного забруднення водойм, свідчать про те, що головними достовірними змінами лейкоцитарної формули периферійної крові риб зі збільшенням потужності поглиненої дози було, з одного боку, лінійне зниження відносної кількості лімфоцитів, а з іншого – збільшення кількості клітин гранулоцитарного ряду.

Якісний аналіз еритроцитів периферійної крові риб у водоймах Чорнобильської зони відчуження виявив численні структурні порушення клітин крові, а також порушення, які пов'язані з патологією мітотичного поділу (деформація ядра, пікноз, пристінкові ядра, цитоліз і мікроядра). При цьому спектр порушень еритроцитів зростав від 3–5 типів у референтних водоймах, досягаючи 11 у водоймах с найбільшими рівнями радіонуклідного забруднення.

Аналіз лейкоцитарної формули периферійної крові риб показав, що додаткове гостре опромінення призвело до перерозподілу формених елементів крові. Упродовж експерименту спостерігали перерозподіл формених елементів крові не тільки у крові, а і у нирках досліджених риб.

У *висновках* наведено узагальнення результатів експериментальних досліджень і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у з'ясуванні і теоретичному обґрунтуванні використання гематологічних показників риб для оцінки формування радіорезистентності риб чотирьох видів в умовах хронічного йонізувального впливу у водоймах ЧЗВ і в гострому експерименті, що може мати використання для прогнозування відклику біоти і стану популяцій цих риб у віддалений постчорнобильський період.

Разом з тим, можна акцентувати увагу на деяких дискусійних питаннях:

1. На с. 49 зазначено, що умовним контролем слугували екземпляри риб, виловлені в водоймах референтних територій, проте вплив інших, крім радіаційного фактора, в цих водоймах не проаналізовано. Чи є у них наявні токсикологічні фактори, насамперед, важкі метали, органічні забруднювачі тощо, порівняно з дослідними територіями, що могли бути модифікуючими чинниками щодо складу і стану кровоносної системи риб?

2. У табл. 3.2 (с. 71) «Діапазони питомої активності радіонуклідів у донних відкладах досліджених водойм упродовж 2011–2017 рр.» наведені дані показників, що відрізняються, в багатьох випадках, у 1000 разів за принципом зростання показників. Чим пояснити таку нестійкість активності радіонуклідів у різні роки?

3. На рис. 5.1. – 5.2 криві проведені на основі чотирьох експериментальних показників (4 точки) довільно без врахування принципу екстраполяції.

4. В роботі трапляються незрозумілі та/або науково некоректні вирази: «...існує певне напруження кровотворної системи» (с. 86). Що малося на увазі?; на с. 36 йдеться про «...визначення стадій токсикозу станом крові...». Що авторка вкладає в поняття «токсикоз» та «стан крові»? На с. 40 наведено вираз «Променеві оксидативні зміни структури і функцій (пошкодження фосфоліпідного бар'єру) біологічної мембрани ...». Як розуміти це твердження?

5. При обговоренні результатів експериментальних досліджень, узагальненні та висновках нерозкритими є такі питання: «Чи пов'язані реакції крові з показниками трофності та фізіологічною активністю риб? Радіаційний фактор впливає на вміст гемоглобінів та їх спорідненість до кисню та дихання риб. Чому не досліджували ці показники? Що спільно, і, відповідно, відмінного, в міжвидовій реакції на хронічне радіонуклідне забруднення? Які види є стійкішими до радіаційного впливу і чому? Яким чином зміна складу формених елементів крові риб позначається на їх

фізіолого-біохімічному статусі, життєздатності, відтворенні та популяційній толерантності окремих видів риб до радіаційного фактора?»

Загалом дисертаційна робота є багатоплановою і зауваження та запитання тільки підкреслюють багатовекторність наукових проблем, що витікають з експериментального дослідження, але не применшують їх результативність і значення.

Робота написана сучасною науковою українською мовою, стилістично і граматично вивірена.

Автореферат дисертації відповідає встановленим вимогам та відображає зміст дисертаційної роботи.

*Висновок.* Дисертаційна робота Поморцевої Наталії Анатоліївни «Гематологічні показники риб у водоймах з різним рівнем радіонуклідного забруднення» є закінченим самостійним дослідженням, що за новизною, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ №656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р. та №567 від 27.07.2016 р.), а Поморцева Наталія Анатоліївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.10 – іхтіологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри загальної біології  
та методики навчання природничих дисциплін  
Тернопільського національного  
педагогічного університету  
імені Володимира Гнатюка,  
доктор біологічних наук, професор



В.В. Грубінко

08 лютого 2019 р.

