

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника ПОТРОХОВА Олександра Спиридоновича на дисертацію РОМАНОВОЇ Елли Едуардівні на тему: «Активність ензимів та особливості обміну вуглеводів і ліпідів в тканинах риб за дії 19-нортестостерону», подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» галузі знань 09 «Біологія»

Актуальність теми полягає в тому, що останнім часом широко застосовуються синтетичні стероїди як для лікування різних захворювань тварин та людей, так і стимулятори росту тварин. Це призводить до потрапляння цих гормонів у природні водойми та створює не тільки істотну екологічну, але й соціальну проблему. Тому, наукові дослідження, які стосуються розповсюдження і накопичення стероїдних гормонів у природних водоймах мають істотний науковий інтерес, особливо через пошук способів зменшення їх негативного впливу на гідробіонтів. Однак, не дивлячись на встановлені шляхи впливу синтетичних екзогенних стероїдів на метаболічні процеси у теплокровних тварин, механізм дії цих гормонів у кісткових риб залишається до кінця не з'ясованим, особливо щодо їх впливу на метаболічні реакції організму.

Крім того, необхідність визначення, за якими біоіндикаторами можна оцінити фізіологічний стан водних організмів, наявність у воді надлишку стероїдних гормонів та якість водного середовища в цілому залишається вкрай актуальним.

Авторка намагається розширити сучасні уявлення щодо впливу екзогенних синтетичних гормонів на фізіологічний та біохімічний стан риб за різноплановими показниками перебігу метаболічних процесів. Також Е. Е. Романова змогла показати, що одним із шляхів впливу синтетичних стероїдів на метаболічні процеси в організмі риб є зміна концентрації ендогенних стероїдних гормонів – регуляторів активності ензимів у клітинах. Під впливом синтетичних стероїдів змінюються вміст білків у плазмі крові та гепатопанкреасі, активність низки ензимів, обмінні процеси вуглеводів, ліпідів та фосфорорганічних сполук, посилюється ПОЛ.

Дисертанткою встановлено, що синтетичні стероїдні гормони у коропа мають анаболічний ефект, а ступінь їх дії на фізіолого-біохімічний стан залежить від концентрації у воді та тривалості впливу. При чому морфологічний склад крові, маси тіла та внутрішніх органів не змінюється, підвищується лише активність дихання. На біохімічному рівні відбувається зміна активності низки ферментів вуглеводного, ліпідного та білкового обміну, змінюється вміст ендогенних стероїдних гормонів, продуктів перекисного окиснення ліпідів.

Романова Е. Е. за результатами проведених досліджень рекомендує використовувати низку біохімічних критеріїв риб задля оцінки ступеню впливу синтетичних стероїдів, а саме

активність ензимів, вміст ендogenous гормонів, показники ПОЛ та концентрацію окремих показників обміну вуглеводів та протеїнів.

Метою роботи, як зазначено дисертанткою, було з'ясувати вплив синтетичного стероїду 19-нортестостерону на вміст ендogenous гормонів, активність ензимів обміну вуглеводів, ліпідів, антиоксидантного захисту, ПОЛ у тканинах та фракційний склад білків плазми крові у кісткових риб.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що авторка поглиблює розуміння механізму дії синтетичних стероїдів в організмі риб. 19-нортестостерон за низької концентрації у воді 50 мкг/дм<sup>3</sup> і нетривалої дії протягом 24 год не впливає, а за високого вмісту (200 мкг/дм<sup>3</sup>) підвищує кількість дихальних рухів, рівень кортизолу, протеїнів, глюкози, тригліцеридів, неорганічного фосфору та заліза, змінює активність низки ферментів у плазмі крові та цитоплазмі гепатопанкреаса. При цьому він не впливає на морфологічний склад крові, масу тіла та внутрішніх органів.

Дія 19-нортестостерону посилює у коропів перекисне окиснення ліпідів, активує ензими антиоксидантного захисту. Відбуваються й інші біохімічні ефекти у коропів за дії його підвищених концентрацій.

Набуло подальшого розвитку розширення відомостей щодо природи адаптаційних механізмів коропа у відповідь на забруднення водного середовища штучними стероїдами.

Практичне значення отриманих результатів. Проведені дослідження дозволили більш детально встановити особливості впливу екзогенного стероїдного гормону 19-нортестостерону на риб, розкривають важливу роль біохімічної відповіді в механізмах адаптації кісткових риб до нього. Одержані дані можуть бути використані як біохімічні критерії для оцінки екологічного стану природних водойм забруднених синтетичними стероїдними гормонами.

Результати дисертаційних досліджень можуть бути використані для впровадження у науково-освітню діяльність закладів вищої освіти за спеціальністю «Водні біоресурси та аквакультура» під час викладання дисципліни «Фізіологія і біохімія гідробіонтів».

Дисертація Е. Е. Романової викладена на 132 сторінках і складається з анотації, вступу, огляду фахової літератури (1 розділ), матеріалів і методів досліджень (2 розділ), розділу щодо результатів досліджень, розділу з обговоренням отриманих результатів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаної літератури, додатків. Вона ілюстрована рисунком, 16 таблицями, налічує 153 літературних джерел, включно 131 латиною.

В *огляді* вітчизняної та зарубіжної фахової літератури (*розділ 1*) дисертантка критично висвітлює наявну у фаховій літературі інформацію, що торкається теми дисертації та акцентує увагу на нез'ясованих питаннях. В цьому розділі систематизовані літературні дані

щодо особливостей впливу стероїдних гормонів та їх роль у регуляції фізіологічних функцій і метаболізму у кісткових риб. Авторкою проаналізовано питання щодо характеристики синтетичних стероїдів та їх впливу на метаболічні процеси в тканинах риб.

Але до цього розділу є декілька зауважень. На жаль, недостатньо приводяться дані щодо наявних концентрацій штучних стероїдних гормонів у природних водах, шляхів їх надходження та виведення з води. Авторка так підводить підсумок у розгляді сучасної літератури, що неможливо перейти до постановки мети та завдань самої дисертації.

Проте, необхідно зазначити, що інформація, яку наведено в огляді літератури, та її критичний аналіз свідчить про достатньо широку ерудицію дисертантки з досліджуваної теми.

**Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження»** включає детальну характеристику схеми проведення експериментів та методів досліджень. Необхідно відмітити чітко та добре продуманий план проведення досліджень та вдалий підбір об'єктів і методик. Авторкою застосовано перевірені класичні методи досліджень. Досить важливо, що авторкою запропоновано різноплановий набір проведених досліджень. Отримані результати досліджень опрацьовано статистично з використанням відповідних програм.

В процесі роботи над дисертацією не були порушені норми біоетики.

**Розділ 3 «Результати досліджень»** включає детальну характеристику проведених експериментів. Цей розділ складається з 6 підрозділів.

В підрозділі 3.1 **«Вплив 19-нортестостерону на зовнішні ознаки, масу внутрішніх органів і гематологічні показники риб»** авторкою зазначається, що за 24 год впливу 50 мкг/дм<sup>3</sup> гормону не відмічається змін активності дихання риб, а при 200 мкг/дм<sup>3</sup> з 3-ї по 24-ту год швидкість дихальних рухів посилюється у 1,47–1,67 раза. Це є одним з компенсаторних механізмів у відповідь на збільшення потреби коропів у кисні внаслідок активації енергетичного обміну та біосинтетичних процесів у тканинах під впливом синтетичних стероїдів. За такий нетривалий час не відбувається зміни у живій масі та довжини тіла риб, що цілком відповідає загальним реакціям риб. Не встановлені порушення у покриві тіла та кольору луски, райдужної оболонки очей, кольору та стану грудних, черевних, спинного, анального та хвостового плавців у коропів, як і індексів органів та формули крові. Але за найбільшої концентрації стероїду знижується показник ШОЕ крові, що впливає її транспортну функцію.

Як зазначає дисертантка переважно всі фізіологічні реакції риб не відрізняються від контрольних.

В підрозділі 3.2 **«Вміст стероїдних гормонів та перекисне окиснення ліпідів у тканинах риб за впливу 19-нортестостерону»** вказано, що цей гормон у концентрації

200 мкг/дм<sup>3</sup> у воді змінює вміст ендogenousних стероїдних гормонів у тканинах риб, а за рівня 50 мкг/дм<sup>3</sup> не впливає на вказані показники. За нетривалої експозиції у плазмі крові риб концентрація тестостерону крові збільшилася у 1,5 раза, а прогестерону і кортизолу навпаки зменшилася відповідно у 2,9 і 5,8 раза. Деяко інший характер впливу 19-нортестостерону на концентрацію стероїдних гормонів спостерігається у надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса коропа, а саме збільшується в ньому кількість тестостерону, кортизолу та прогестерону.

Але авторка зазначає, що синтетичний аналог тестостерону ймовірно конкурує із ендogenousними стероїдами за центри зв'язування, унаслідок чого підвищується їх вміст у тканинах риб. За достатньо невеликих концентрацій синтетичного гормону у воді риби адаптуються без зміни вмісту ендogenousних стероїдних гормонів у тканинах, а за більш високих – відбувається активна регуляція пристосувальних механізмів.

В цьому ж підрозділі вказано, що за дії 19-нортестостерону відбувається активізація процесів ПОЛ та систем антиоксидантного захисту в тканинах риб.

**Підрозділ 3.3 «Показники обміну вуглеводів, ліпідів та вміст макро- і мікроелементів у тканинах риб за впливу 19-нортестостерону»** стосуються загально біохімічних досліджень плазми крові та гепатопанкреасу коропа за впливом підвищення концентрації 19-нортестостерону у воді. Дисертанткою зазначається, що він проявляє анаболічний ефект, стимулюючи біосинтез протеїнів у тканинах. Спостерігається концентраційно-залежний ефект гормону на вміст альбумінів, глюкози, тригліциридів, креатину, фосфору та заліза у тканинах. Значне підвищення концентрації глюкози в гепатопанкреасі риб дослідних груп авторка пояснює стимуляцією 19-нортестостероном енергетичних процесів, а внаслідок посилення біосинтезу білка в тканинах потрібні додаткові джерела енергії. Дисертантка визначає стимуляцію 19-нортестостероном енергетичного обміну та біосинтетичних процесів у тканинах риб, які залежать від його концентрації у воді.

За результатами досліджень (**підрозділ 3.4 «Активність ензимів у тканинах риб за дії 19-нортестостерону»**) показано, що реакція риб на дію синтетичного анаболічного стероїду 19-нортестостерону залежить від його концентрації у воді і супроводжується зміною активності низки ензимів у плазмі крові і в гепатопанкреасі. Зростання активності ензимів вуглеводного та енергетичного обміну, а також переамінування глюкогенних амінокислот у гепатопанкреасі риб за його дії розкриває один із важливих аспектів механізму впливу на процеси метаболізму в тканинах кісткових риб, що забезпечує їх адаптацію до дії стероїдних гормонів.

В **підрозділі 3.5 «Фракційний склад білків плазми крові за дії 19-нортестостерону»** авторка вказує, що синтетичний стероїд не лише проявляє у риб анаболічний ефект,

але й впливає на фракційний склад білків плазми крові. Але є помилковим судження про зміну електрофоретичної рухливості окремих фракцій.

Крім того, за результатами досліджень доводяться важливість впливу синтетичного стероїдного гормону 19-нортестостерону на біосинтез різних фракцій протеїнів у тканинах та їх властивості у плазмі крові кісткових риб.

В *підрозділі 3.6 «Особливості метаболічних процесів у тканинах риб за тривалого впливу 19-нортестостерону»* авторка наводить отримані дані, що стосуються тривалого (72 год) впливу гормону на вищезгадані показники риб.

За результатами проведених досліджень дисертантка дійшла до висновку про те, що екзогенні стероїдні гормони, потрапляючи в організм риб, змінюють гормональний статус, внаслідок чого активуються реакції гліюконеогенезу, енергетичного обміну, окисно-відновні процеси та біосинтез білків, дія залежить як від концентрації стероїдів у воді і тривалості впливу.

Загалом, Е. Е. Романова доволі аргументовано доводить результати своїх досліджень, які добре проілюстровані.

У *розділі 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень»* авторка підводить підсумок отриманих результатів. На жаль, дисертантка не наводить узагальнюючих схем, як підсумок своєї роботи. За детальним аналізом та узагальненням отриманих результатів авторка рекомендує використання низки біохімічних критеріїв риб, а саме активність ферментів, вміст гормонів, показники ПОЛ та концентрацію окремих показників обміну вуглеводів та протеїнів задля оцінки ступеню впливу синтетичних стероїдів, які потрапляють у водойми.

Висновки інформативні та віддзеркалюють зміст дисертації.

Список використаних джерел оформлений згідно існуючих вимог.

Анотація повною мірою відображає зміст роботи. Вона не містить положень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

Дисертація написана грамотно, літературною мовою, стиль викладення науковий, думки авторки висловлені чітко і послідовно.

Водночас до роботи можна висловити окремі зауваження та запитання:

1. Потрібно конкретизувати наукову новизну роботи, а не повторювати основні висновки дисертації.

2. У вступі відсутній підрозділ «Структура дисертації».

3. Яке співвідношення маси тіла експериментальних риб до об'єму води в акваріумі і чи не впливає воно на отримані в подальшому показники риб?

4. На підставі чого гомогенати печінки готувалися з додаванням дистильованої води, а не відповідного буферу?

5. Чому дисертантка не розраховувала коефіцієнт де Рітца, який є більш показовим, ніж активність АсАТ та АлАТ?

6. Викликає сумніви таке швидке зростання вмісту тестостерону у гепатопанкреасі у 10 разів за 72 години (табл. 3.16)? Чи не є це помилкою при розрахунках?

7. Загальний висновок по розділу «Результати досліджень» вкрай недостатній.

8. Чому дисертантка вважає, що «основними субстратами для синтезу протеїнів у тканинах є амінокислоти аланін та аспарагінова кислота» (с. 99)?

9. У висновках недостатній фактичний, цифровий матеріал. Доцільно вказувати конкретний час експозиції, а не нетривала або тривала дія, 72 години теж нетривала дія.

Проте, відмічені зауваження не знижують загальної позитивної оцінки дисертації.

Отже, дисертація Е. Е. Романової є самостійною науковою працею, завершеною щодо поставленої мети. В ній наведено нові обґрунтовані результати, більшість з яких отримано вперше. Вона має безперечно теоретичне і практичне значення.

Результати роботи широко висвітлені у публікаціях авторки у фахових наукових виданнях. Основні положення роботи пройшли апробацію на різноманітних вітчизняних та закордонних конференціях.

**Висновок.** На основі переліченого вважаю, що дисертація Е. Е. Романової на тему: «Активність ензимів та особливості обміну вуглеводів і ліпідів в тканинах риб за дії 19-нортестостерону», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та за оформленням відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року) та сучасним Вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерством освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року (із змінами, внесеними згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31 травня 2019 року), відповідає напряму досліджень НУБіП України, а її авторка Романова Елла Едуардівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» галузі знань 09 «Біологія».

Офіційний опонент завідувач відділу біології відтворення риб Інституту гідробіології Національної академії наук України, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник Олександр ПОТРОХОВ

