

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника, члена-кореспондента НААН України

САЛИГИ Юрія Тарасовича

на дисертаційну роботу

РОМАНОВОЇ Елли Едуардівни

«Активність ензимів та особливості обміну вуглеводів і ліпідів в тканинах риб за дії 19-нортестостерону»

подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія

Актуальність теми дисертаційної роботи.

Дослідження механізмів впливу антропогенних чинників на гідробіонтів, зокрема кісткових риб є одним із важливих напрямків біологічної науки, що важливо для встановлення критеріїв оцінки екологічного стану природних водойм. Найбільшу проблему для природних водойм сьогодні, крім важких металів, гербіцидів та антибіотиків становлять стероїдні гормони, а також їх синтетичні аналоги так звані „ендокринні руйнівники”, які потрапляють у воду із стічними водами комунальних закладів, а також очисних споруд населених пунктів та тваринницьких підприємств. Серед виявлених у природних водоймах стероїдних гормонів найбільшу проблему для водних організмів становлять естрогени, зокрема естрон та 17 β -естрадіол, а також синтетичні стероїди похідні тестостерону. Вони впливають на структуру популяцій риб, розвиток ембріонів, морфометричні ознаки і морфологічний склад крові, метаболічні процеси в тканинах. Стероїдні гормони виявлено також у підземних водоносних горизонтах, що створює значну екологічну проблему та впливає на здоров'я

людей. Потрапляючи із води в організм риб, стероїдні гормони стимулюють гіпоталамо-гіпофізарно-ендокринну систему та впливають на синтез адреналіну, норадреналіну і катехоламінів, підвищують вміст кортикостероїдів в тканинах та органах-мішенях. Встановлено, що до незначних концентрацій стероїдних гормонів у воді за їх нетривалої дії кісткові риби здатні адаптуватись, змінюючи вміст ендогенних гормонів, зокрема кортизолу, активність ензимів, та інтенсивність обміну вуглеводів і ліпідів в тканинах.

У водоймах, забруднених стоками тваринницьких підприємств, часто виявляють синтетичний стероїдний гормон 19-нортестостерон (нандролон), який широко використовують як лікувальний засіб. Це анаболічний стероїд, який входить до групи прогестерону і є агоністом рецепторів андрогенів. Встановлено вплив 19-нортестостерону на біосинтез та фракційний склад білків плазми крові, а також на окремі метаболічні процеси в тканинах.

Що стосується механізму впливу 19-нортестостерону на фізіологічні функції, вміст ендогенних стероїдних гормонів, активність ензимів, перекисне окиснення ліпідів, метаболізм вуглеводів в тканинах кісткових риб то він залишається не до кінця з'ясованим, і потребує подальших досліджень.

У зв'язку з цим дисертаційна робота Романової Е. Е. є актуальною оскільки направлена на розв'язання важливого наукового завдання, з'ясування механізму впливу забруднювача природних водойм синтетичного стероїдного гормону 19-нортестостерону на метаболічні процеси в тканинах кісткових риб, що має важливе не тільки наукове але й практичне значення.

Крім того актуальність дисертації Романової Е. Е. визначається тим, що проведені дослідження щодо впливу синтетичного стероїду 19-нортестостерону на активність ензимів, вміст гормонів, процеси ПОЛ, окремі ланки обміну вуглеводів, ліпідів і амінокислот та білків у дворічок коропа та

одержані результати дали можливість встановити основні ланки механізму дії синтетичних стероїдів на метаболічні процеси та фізіологічні функції в організмі кісткових риб.

Наукова новизна та зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Автором дисертації з'ясовано роль синтетичного стероїду 19-нортестостерону в обміні вуглеводів, ліпідів, протеїнів, окремих амінокислот, перекисного окиснення ліпідів, активності ензимів, встановлено його вплив на гормональний стан і окремі фізіологічні функції, що поглиблює розуміння механізму впливу синтетичних екзогенних стероїдів на основні ланки метаболізму у кісткових риб.

Вперше виявлено особливості впливу різної концентрації 19-нортестостерону у воді на метаболізм у кісткових риб. За низької концентрації у воді і нетривалій дії гормон не впливає, а за високого вмісту збільшує кількість дихальних рухів, рівень ендогенних стероїдів кортизолу, тестостерону і прогестерону в тканинах, проявляє анаболічний ефект, стимулює синтез глюкози і тригліцеридів, підвищує лужнофосфатазну, лактатдегідрогеназну, глюкозо-6-фосфатазну, креатинфосфокіназну, аспартатамінотрансферазну і аланінамінотрансферазну активність в плазмі крові та цитоплазмі, ізоцитратдегідрогеназну і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназну активність в мітохондріях гепатопанкреаса, за сталих значень морфологічного складу крові, маси тіла та внутрішніх органів.

Синтетичний стероїд 19-нортестостерон стимулює у коропів ПОЛ, збільшуючи вміст малонового диальдегіду, гідроперекисів ліпідів, дієнових кон'югатів в гепатопанкреасі і плазмі крові, а також активність каталази та супероксиддисмутази в тканинах. Виявлено перерозподіл фракцій протеїнів в плазмі крові риб залежно від концентрації 19-нортестостерону у воді.

Виявлено, що за тривалої дії і низької концентрації 19-нортестостерону у воді в гепатопанкреасі дворічок коропа вище концентрація глюкози,

протеїнів, а також лактатдегідрогеназна активність, а інші показники обміну ліпідів і білків, а також активність досліджуваних ензимів та ендогенних стероїдних гормонів в плазмі крові та гепатопанкреасі не змінювались, що свідчить про здатність кісткових риб адаптуватись до низької концентрації синтетичних стероїдів у воді.

За високої концентрації гормону 19-нортестостерону у воді і тривалій його дії в гепатопанкреасі риб активуються реакції глюконеогенезу, біосинтезу протеїнів, тригліцеридів, переамінування окремих амінокислот, що є наслідком впливу ендогенних стероїдів, зокрема тестостерону, прогестерону і кортизолу, не дивлячись на те що в плазмі крові риб спостерігали лише зміни активності окремих ензимів та досліджуваних гормонів за сталих значень інших показників.

На основі одержаних результатів досліджень запропоновано низку критеріїв, а саме вміст глюкози, протеїнів та концентрація кортизолу в плазмі крові кісткових риб, які доцільно використовувати при оцінці екологічного стану природних водойм забруднених синтетичними стероїдами. Результати досліджень використано також при розробленні науково-практичних рекомендацій «Оцінка екологічного стану природних водойм забруднених побічними продуктами тваринництва» .

Дисертаційну роботу здобувачкою виконано в рамках науково-дослідної теми: «Розробити систему контролю та відновлення екологічної рівноваги природних водойм, забруднених побічними продуктами тваринництва», № держреєстрації 0121U110189, яка виконувалась впродовж 2021-2022 рр. (науковий керівник професор М. О. Захаренко).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертаційній праці.

Наукові положення, наведені в дисертаційній роботі Романової Е.Е. сформульовані на основі проведених досліджень, а висновки є

обґрунтованими і впливають із одержаних результатів. Дисертанткою опрацьовано значний обсяг сучасної наукової літератури за темою проведених досліджень. Для визначення показників метаболізму в тканинах риб використано сучасні методи біохімічних, фізіологічних, гематологічних та статистичних досліджень, а також достатню кількість риб, що свідчить про достовірність одержаних результатів, їх важливість для науки і практики.

Значення одержаних дисертантом результатів для науки й практики.

Дисертанткою при проведенні досліджень було з'ясовано вплив одного із забруднювачів природних водойм синтетичного стероїдного гормону 19-нортестостерону на метаболічні процеси в тканинах кісткових риб. Встановлено, що синтетичні стероїди у дворічок коропа володіють анаболічним ефектом, а їх вплив на фізіологічні функції і метаболічні процеси в тканинах залежить від концентрації у воді та тривалості дії і пов'язаний із зміною активності низки ензимів обміну вуглеводів, ліпідів і окремих амінокислот, вмісту ендогенних стероїдних гормонів, компонентів перекисного окиснення ліпідів, обміну енергії та мінеральних речовин, фракційного складу білків плазми крові, посиленням дихальної функції за сталого морфологічного складу крові, маси тіла та внутрішніх органів.

Одержані результати розкривають важливу роль вуглеводів, ліпідів, протеїнів і окремих амінокислот, ендогенних гормонів, перекисного окиснення ліпідів та активності ензимів антиоксидантного захисту в механізмах адаптації кісткових риб до дії синтетичних стероїдів у воді. Окремі показники можуть бути використані в якості біохімічних критеріїв при оцінці екологічного стану природних водойм забруднених синтетичними стероїдними гормонами.

Результати досліджень також використано при розробленні науково-практичних рекомендацій «Оцінка екологічного стану природних водойм забруднених побічними продуктами тваринництва».

Повнота оприлюднення й викладення результатів в опублікованих працях.

Дисертанткою за темою дисертації опубліковано 7 наукових праць з яких 1 стаття у Міжнародному виданні, включеному до бази даних Scopus та 2 статті у фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних та 4 тези доповідей на Міжнародних конференціях.

Результати досліджень були представлені на 2 Міжнародних наукових конференціях за кордоном, 1 Міжнародній вітчизняній конференції і 2 Всеукраїнських конференціях.

Публікації.

1. Захаренко М.О., **Романова Е.Е.** Вплив 19-нортестостерону на вміст стероїдних гормонів, гематологічні показники та окремі ланки метаболізму в тканинах коропа (*Syrphus caepio* L.). Гідробіологічний журнал. 2024. Т. 60. № 2. С. 95-107. Doi:10.1615/HydrobJ.v60.i4.60

Статті у наукових фахових виданнях України

2. **Романова Е.Е.**, Захаренко М.О. Активність ензимів метаболізму вуглеводів і амінокислот та перекисне окиснення ліпідів в тканинах коропа за дії 19-нортестостерону. Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). 2023. Т.15. Вип. 2, С. 122-129. Doi: <http://doi.org/10.31861/biosystems2023.02.122>

3. Захаренко М.О., **Романова Е.Е.** Білки плазми крові та вміст метаболітів обміну вуглеводів і ліпідів в гепатопанкреасі риб за дії 19-нортестостерону. Science Rise: (Biological Science). 2023. №4, Вип. 37, С. 19-24. Doi: <http://doi.org/10.15587/2519-8025.2023.298736>.

Науково-практичні рекомендації

4. Захаренко М.О., Курбатова І.М., Поляковський В.М., Заєць Н.А., Чепіль Л.В., **Романова Е.Е.** Оцінка екологічного стану ставів забруднених

стічними водами тваринницьких підприємств/ Науково-практичні рекомендації. Київ. Вид. НУБіП України, 2022, 22 с.

Тези наукових доповідей

5. Захаренко М.О., **Романова Е.Е.**, Курбатова І.М., Поляковський В.М. Вміст гормонів та метаболітів проміжного обміну в плазмі крові риб за дії нандролону. Тези XII Міжнародної наукової конференції «Іновації в житті людей», 8-10 червня 2022 року, Біологічні науки. Манчестер, Великобританія, 2022. С. 52. <https://sci-conf.com.ua/wp-content/uploads/2022/06/INTERNATIONAL-SCIENTIFIC-INNOVATIONS-IN-HUMAN-LIFE-8-10.06.22.pdf>

6. **Романова Е.Е.**, Захаренко М.О., Курбатова І.М. Фракційний склад білків плазми крові риб за різної концентрації нандролону у воді. Тези X Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна наука: іновації та очікування», Біологічні науки, Стокгольм. Швеція, 22-27 червня 2022. С. 35. <https://sci-conf.com.ua/wp-content/uploads/2022/06/MODERN-SCIENCE-INNOVATIONS-AND-PROSPECTS-25-27.06.22.pdf>

7. **Романова Е.Е.**, Курбатова І.М., Захаренко М.О. Вміст ендогенних стероїдів та активність ензимів антиоксидантного захисту в тканинах риб за дії 19-нортестостерону. Тези Першої всеукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні екологічні виклики в Україні та світі», Біологічні науки, Київ. Україна 21-22 березня 2024 р. С. 49 – 52.

8. Захаренко М.О., Курбатова І.М., **Романова Е.Е.** Активність ензимів обміну вуглеводів та вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів в тканинах риб за різної концентрації 19-нортестостерону у воді. Proceedings of V International Scientific and Practical Conference, Biology Science, Vienna, Austria 15-17 April 2024 С. 21 –25. <https://sci-conf.com.ua/wp-content/uploads/2024/04/SCIENCE-AND-SOCIETY.-MODERN-TRENDS-IN-A-CHANGING-WORLD-15-17.04.24.pdf>

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація, яку викладено на 131 сторінці комп'ютерного тексту, містить наступні розділи: анотацію, вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву та додатки. Список літературних джерел, які дисертантка використала при написанні роботи налічує 152 посилання із них 128 джерел наведено латиницею.

Розділ „Вступ” містить інформацію щодо ролі стероїдних гормонів в регуляції метаболічних процесів у кісткових риб, вказано також на актуальність роботи, наведено мету, завдання і методи досліджень, сформульовано наукову новизну та практичне значення результатів, вказано публікації та структуру і обсяг дисертації.

У розділі „Огляд літератури”, який викладено на 25 сторінках, міститься інформація щодо регуляторної ролі ендогенних стероїдних гормонів у риб, розглянуто механізми регуляції стероїдними гормонами метаболічних процесів в тканинах, їх впливу на фізіологічні функції. Наведено результати досліджень вітчизняних та зарубіжних дослідників щодо регуляції стероїдними гормонами обміну вуглеводів, ліпідів та протеїнів в тканинах риб, їх вплив на активність ензимів, перекисне окиснення ліпідів, вміст ендогенних гормонів. Окремо розглянуто питання впливу синтетичних стероїдних гормонів, зокрема нандролону на перебіг основних метаболічних процесів в тканинах риб. Наведений матеріал проаналізовано та узагальнено, зроблено загальний висновок. Слід зазначити, що огляд літературних джерел відповідає напрямку проведених досліджень, а використані джерела є сучасними.

У розділі „Матеріали і методи досліджень” приведено схему досліджень, а також інформацію про використані методи, матеріали, прилади та реактиви. Дано коротку характеристику методів визначення метаболітів вуглеводного, ліпідного та білкового обміну, активності ензимів, продуктів

ПОЛ, вмісту гормонів, фракційного складу білків плазми крові, гематологічних та іхтіологічних показників. Необхідно вказати, що досліді проведено методично вірно, а використані методи досліджень є сучасними, що свідчить про достовірність одержаних результатів.

Розділ „Результати досліджень” складається із п’яти підрозділів і викладено на 30 сторінках комп’ютерного тексту. У розділі наведено одержані автором дані з активності ензимів перетворення вуглеводів, реакцій переамінування, енергетичного обміну, вмісту ендогенних гормонів, концентрацію основних метаболітів ліпідного та білкового обміну, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту в гепатопанкреасі риб, фракційний склад білків плазми крові за короткотривалої і довготривалої дії різної концентрації синтетичного стероїду 19-нортестостерону у воді акваріума. Не залишились поза увагою дисертанта і дослідження стану покривів тіла, плавців, зябер, дихальної функції риб, морфологічного складу крові за впливу даного ксенобіотика у воді. Одержані результати дали можливість дисертантці, узагальнивши їх, запропонувати загальну схему впливу екзогенних стероїдних гормонів на фізіологічні функції та метаболічні процеси в тканинах кісткових риб. Розділ написано кваліфікованою науковою мовою, легко читається, а вкінці кожного підрозділу наведено загальний висновок.

У розділі „Аналіз та узагальнення результатів досліджень” дисертантка аналізує та узагальнює одержані результати досліджень, поєднуючи їх з матеріалами інших дослідників. На підставі наведених матеріалів дисертанткою розкрито головні напрямки механізму впливу синтетичних стероїдів на фізіологічні функції і метаболічні процеси в тканинах кісткових риб. Матеріал, наведений в розділі, відповідає встановленим вимогам, легко читається і містить лише окремі невдалі вирази.

Наведені в дисертації висновки загалом відповідають одержаним результатам досліджень. Список використаних літературних джерел оформлено згідно вимог і включає 152 найменування, із яких 128 зарубіжних авторів.

Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Романової Е.Е. в цілому необхідно вказати і на виявлені в процесі рецензування недоліки, зауваження та побажання.

1. У тексті дисертаційної роботи зустрічаються граматичні помилки, стилістичні неточності. Також дисертантці варто звернути увагу на низку термінологічних недоліків, зокрема, слід скрізь вживати терміни «протеїни, протеїнові» і т.д., а не «білки, білкові...», «ензиматичний», а не «ферментативний», «особини риб», а не «екземпляри риб», «риб виводили з експерименту, або здійснювали їх евтаназію», а не «риб забивали», необхідно подавати назви хімічних елементів за діючими вимогами. Не слід писати «проводили науковий експеримент», адже, зрозуміло, що у дисертаційній роботі не може бути ненаукових експериментів. Крім того, краще було б написати, що у ході виконання дисертаційної роботи проведено 4 серії експериментальних досліджень, а не 4 експерименти.
2. У дисертаційній роботі не вказано вихідні дані протоколу біоетичної комісії установи щодо дозволу на проведення досліджень на тваринах.
3. Виникає запитання – на основі чого (літературні дані, попередні власні дослідження, гіпотетичні аргументи тощо) дисертанткою було обрані використані нею концентрації 19-нортестостерону у воді і тривалості довго- і короткотривалого експериментів?

4. Дисертантка наводить отримані дані із зазначенням, що вони отримані в «надосадовій фракції гомогенату гепатопанкреаса». Вважаю, що цього не варто повторювати багато разів у тексті дисертації, а достатньо лише описати у матеріалах і методах дослідження. У представленні результатів і їхньому обговоренні слід вказувати про зміни того чи іншого показника у гепатопанкреасі, крові, селезінці тощо.
5. Варто було при описі результатів дисертаційної роботи закінчувати підрозділи цієї частини дисертації наведення власних публікацій, у яких ці дані були опубліковані.
6. На жаль, розділ «Обговорення результатів» не містить підсумкової узагальнюючої схеми, чи рисунка, присутність яких покращило б комплексне розуміння і важливість отриманих результатів.
7. Кількість наведених висновків можна було б зменшити, натомість підсиливши їх аргументованими поясненнями отриманих результатів.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Аналіз дисертації та наукових публікацій Романової Е.Е. показав, що дисертантка відповідально ставилась до виконання досліджень за темою дисертаційної роботи, не використовувала в роботі ідей та результатів інших дослідників, що не дає підстав припускати порушення академічної доброчесності. Цей висновок підтверджено довідкою про перевірку дисертації на плагіат. Використана дисертанткою наукова інформація із зовнішніх джерел містить посилання на них відповідно до норм законодавства про авторське право й суміжні права.

Висновок.

Узагальнюючи вищесказане вважаю, що дисертаційна робота Романової Елли Едуардівни «Активність ензимів та особливості обміну вуглеводів і ліпідів в тканинах риб за дії 19-нортестостерону» є завершеним самостійним науковим дослідженням, у якому вирішено конкретну наукову проблему, що має практичне значення, і відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (зі змінами) та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженими наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 (зі змінами від 12 липня 2019 року), а її автор Романова Е.Е. заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент, доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник, член-кореспондент НААН,
директор Інституту біології тварин НААН

Юрій САЛИГА