**ВІДГУК**

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Марківа Віктора Степановича

«ОСОБЛИВОСТІ ЛІПІДНОГО СКЛАДУ ТА СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПРІСНОВОДНИХ РИБ ЗА ДІЇ ІОНІВ КОБАЛЬТУ»,

представлену до захисту на здобуття наукового ступеня: доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», 09 «Біологія»

Дисертаційна робота Віктора Степановича Марківа «Особливості ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту» є самостійним науковим дослідженням, що розкриває комплексні механізми біохімічної адаптації та токсичного ураження тканин прісноводних риб (на прикладі карася сріблястого і щуки) в умовах акумуляції в них кобальту, здійсненим за допомогою сучасних біохімічних, статистичних та інших методів.

Структурно дисертація відповідає вимогам наказу Міністерства освіти та науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (Із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019). Представлений рукопис дисертації має усі необхідні складові, а саме: анотацію, вступ, шість розділів (з яких один присвячений огляду літератури, інший матеріалам і методам досліджень, три – результатам власних досліджень і ще один останній аналізу отриманих наукових результатів), висновків, списку використаних літературних джерел (218 найменувань, з яких 213 – латиницею). Загальний обсяг дисертації становить 164 сторінок машинописного тексту, з яких основний текст викладено на 132 сторінках. В якості ілюстрацій у тексті наведено 58 рисунків та 4 таблиці.

У **Вступі** (с. 18-24) наведено обґрунтування вибору теми наукового дослідження, зв'язок роботи з науковими темами, мета та завдання через

виконання яких досягались отримані результати дослідження, використані для цього методи, наукова новизна та практичне значення проведеного дослідження, особистий внесок здобувача, апробація результатів роботи, інші дані, що передбачені для цієї частини.

Метою дисертаційної роботи Марківа В.С. було здійснення порівняльної характеристики зміни окремих фракцій ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб (на прикладі карася сріблястого та щуки звичайної) за впливу підвищених концентрацій іонів кобальту у воді.

Задля досягнення вищевказаної мети в дисертацій роботі було передбачено і виконано сім завдань, які окреслюють спрямування теоретичних та практичних досліджень: проаналізовано особливості накопичення кобальту в зябрах, печінці та м'язах карася і щуки за різних концентрацій у воді; досліджено 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; встановлено зміни жирнокислотного складу ліпідів м'язів риб та харчових індексів за дії підвищених концентрацій іонів кобальту; оцінено вплив підвищених концентрацій $Co^{2+}$ у воді на ферментативні та неферментативні біомаркери оксидативного пошкодження у досліджуваних тканинах карася та щуки; виявлено міжвидові особливості адаптивно-компенсаторних реакцій досліджуваних видів риб у відповідь на оксидативний стрес, індукований іонами кобальту; встановлено наявність кореляційних зв'язків між вмістом кобальту, частками фракцій ліпідів, показниками пероксидного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи за дії підвищених концентрацій іонів кобальту;проаналізовано кореляційні закономірності між рівнем токсичного навантаження кобальтом і змінами структурно-функціонального стану тканин риб для розробки критеріїв біотестування водного середовища.

Об'єктом дослідження були адаптивно-компенсаторні реакції прісноводних риб за інтоксикації металами, а предметом дослідження –

фракційний склад ліпідів та стан антиоксидантної системи риб за впливу сублетальних концентрацій іонів кобальту.

Серед головних досягнень новизни отриманих результатів Марківа В.С. слід назвати: встановлення закономірностей перебудови ліпідного складу, інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та функціонування антиоксидантної системи у карася та щуки за дії іонів кобальту, а також міжвидові особливості адаптивної відповіді. Здобувачем встановлено вперше, що більш висока екологічна резистентність карася сріблястого як всеїдної мирної риби чітко корелює з меншою кількістю вірогідних відхилень у ліпідному складі та стабільнішою роботою антиоксидантної системи порівняно з високочутливим хижаком – щукою звичайною. Серед інших компонентів отриманої новизни наукових результатів слід назвати розкриття патологічних механізмів порушення архітектоніки клітинних мембран та мобілізації ліпідних резервів – в умовах стресу склад жирних кислот поповнюється переважно за рахунок деструктивного фосфоліпазного гідролізу структурних мембранних фосфоліпідів (переважно лізофосфатидилхоліну), а не шляхом класичного ліполізу резервних триацилгліцеролів.

Практичне значення отриманих результатів важливе для екологічного моніторингу, рибного господарства, а також у розвитку науково-освітнього напрямку. Зокрема, результати дослідження можливо використовувати у практиці рибного господарства для оцінки фізіологічного стану риб та моделювання наслідків антропогенної трансформації середовища на їх метаболічні процеси, продуктивність, та можуть були враховані при оцінці харчової та біологічної цінності рибної продукції за умов дії кобальту.

**Розділ І. Огляд літератури** (с. 25-47) налічувала чотири підрозділи, які розкривають роль кобальту у фізіологічних процесах в організмі тварин, його токсикологічні наслідки у водних екосистемах та методи аналізу і контролю цього металу в гідроекосистемах, а також вплив важких металів (зокрема кобальту) на ліпідний обмін риб.

З нашої точки зору, досить цікавими тут є дані про критичну роль вітаміну $B_{12}$ у підтримці імунологічного гомеостазу риб, до складу якого входить кобальт. Через дефіцит здатності до метилювання часто це спричиняє гіпергомоцистеїнемію – стан, за якого виникає судинне запалення, що сприяє перебігу різних системних захворювань та викликає переосмислення фізіологічного значення кобальту завдяки його здатності модулювати реакцію клітин на гіпоксію в організмі риб. Саме властивість кобальту підвищувати стійкість тканин до нестачі кисню робить його перспективним фармакологічним інструментом для попередньої підготовки організму риб до стресу.

**Розділ II. Матеріали та методи дослідження** (с. 48-55) складається із чотирьох підрозділів, в яких здобувач логічно розкриває наступні складові дослідження: умови утримання риб в акваріумах та відбір зразків тканин, послідовність визначення вмісту металів у тканинах риб, дослідження їх біохімічного складу в лабораторних умовах; статистична обробка даних.

В дисертаційній роботі Марківа В.С. наступні розділи присвячені результатам власних досліджень та їх обговоренню.

**Розділ III. Накопичення і перерозподіл іонів кобальту в організмі карася і щуки** (с. 56-59) присвячений акумуляції та перерозподіл іонів кобальту в організмі прісноводних риб – карася сріблястого і щуки звичайної. Найнижчий рівень накопичення $Co^{2+}$ за дії його підвищених концентрацій спостерігався у зябрах обох риб. В печінці карася його рівень знижувався у порівнянні із зябрами, а у щуки – навпаки, збільшувався 3,5 рази. Однак, саме максимальна акумуляція кобальту спостерігалась у м'язах карася – у 3,7 разів в порівнянні із зябрами.

**Розділ IV. Особливості ліпідного складу тканин зябер, печінки та мязів риб за інтоксикації іонами кобальту** (с. 60-85) складається із чотирьох підрозділів та висвітлює загальний вміст ліпідів, вміст неполярних ліпідів і фосфоліпідів в тканинах зябер, печінки та м'язів карася і щуки, а також зміну жирно кислотного складу м'язів обох видів риб за дії іонів

кобальту. Встановлено, що у зябрах карася показник загального вмісту ліпідів залишається без змін, тоді як у печінці відбувається достовірне їх накопичення. Для обох видів риб адаптація до токсичного впливу іонів кобальту супроводжується односпрямованою реакцією скелетних м'язів, що відображає інтенсивну мобілізацію резервних структурних та енергетичних компонентів для забезпечення енергозатратних компенсаторних реакцій організму. Спільною реакцією для карася і щуки також є інтенсифікація ліполізу, що підтверджується системним зниженням вмісту окремих класів ліпідів у печінці та скелетних м'язах.

**Розділ V. Вплив підвищених концентрацій іонів кобальту на стан антиоксидантної системи та пероксидне окислення ліпідів в організмі риб** (с. 86-97) включає п'ять підрозділів, які розкривають у карася сріблястого і щуки звичайної активність загальну антиоксидантну, глутатіону загального, глутатіону-S-трасферази і пероксидного окиснення ліпідів у тканинах, а також активність каталази у печінці цих риб. Встановлено, що вплив підвищених концентрацій іонів кобальту на активність антиоксидантної системи та інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у риб носило виражений видоспецифічний характер. Карась демонстрував високу резистентність до інтоксикації іонами кобальту, а також здатність до антиоксидативної гіперкомпенсації. Організм щуки виявився значно вразливішим до дії іонів кобальту. Інтоксикація супроводжувалась інтенсифікацією процесів пероксидного окиснення ліпідів у всіх досліджуваних її тканинах. У щуки спостерігалось виснаження не ферментативного захисту через зниження вмісту загального глутатіону в її зябрах та печінці.

**Розділ VI. Аналіз та узагальнення результатів дослідження** (с. 98-130) містить два підрозділи в яких аналізуються співвідношення фракцій ліпідів і жирних кислот а також акумулювання кобальту як чинника токсичності в організмі карася сріблястої і щуки звичайної. Спільною рисою для печінки обох видів риб є виражена перебудова індексів плинності у

відповідь на акумуляцію металу, проте вектори цієї адаптації є кардинально відмінними.

Зокрема, печінка карася реагує на інтоксикацію кобальтом значним підвищенням жорсткості мембран, тоді як щука не демонструє достовірних змін відповідних фракцій ліпідів, а її мембрани стрімко втрачають плинність.

За дії кобальту у м'язах карася спостерігається активна компенсаторна відповідь через накопичення поліненасичених жирних кислот і зростання індексів ненасиченості, що забезпечує підтримку жорсткості мембран. У м'язовій тканині щуки виявлено зниження всіх досліджуваних фракцій ненасичених жирних кислот, а структура її м'язової тканини вказує на високоспецифічні біохімічні відповіді без ремоделювання індексів співвідношення жирних кислот. В результаті пероксидного окиснення ліпідів відбувається деградація ейкозапентаєнової кислоти у пропорції 20:5, що призводить до втрати глутатіону.

**Висновки** (с. 130-132) дисертаційної роботи Марківа В.С. узагальнюють отримані результати наукового дослідження відповідно до мети та поставлених завдань.

**Список використаних джерел** (с. 133-164) містить 218 найменувань, з яких 213 – латиницею складений із дотриманням необхідних вимог.

В процесі аналізу тексту даної роботи в нас виникли наступні зауваження та побажання:

1. У Підрозділі 2.3. Біохімічні методи дослідження (с. 50-54) нумерацію дев'яти наведених підзаголовків краще було б прибрати із тексту, а в кінці кожного з них поставити крапку, що надало б можливість не вважати їх підзаголовками та не вносити їх до змісту дисертації.

2. У Розділі 6. Аналіз та узагальнення результатів дослідження підрозділ 6.1. переходить у підрозділ 6.3, тоді як за текстом повинен бути підрозділ 6.2 (с. 110).

3. У Розділі 6. Аналіз та узагальнення результатів дослідження в тексті пропущене посилання на рисунки 6.9. (с. 107) а також 6.10. (с. 108). А

посилання на рисунок 6.15 (яке є на початку аналізу для всіх рисунків разом) доцільніше слід повторити ще раз біля самого рисунку на с. 117 чи 118.

Наведені вище зауваження та пропозиції не знижують науковий рівень дисертаційної роботи Марківа В.С., яка є самостійним і завершеним науковим дослідженням.

Оформлення дисертаційної роботи відповідає встановленим вимогам до її структури, робота написана науковою мовою, але спостерігаються друкарські окремі помилки.

Ознайомлення з текстом дисертації свідчить, що її автор обґрунтував методологію проведення досліджень, розробив робочі гіпотези, виконав камеральні та польові дослідження, провів розрахунки відповідних показників та їхню статистичну обробку, узагальнив та оприлюднив одержані результати у наукових друкованих працях.

Робота виконувалась у межах науково-дослідної держтематики «Дослідження токсикорезистентності прісноводних риб до дії чинників водного середовища» № 0122U001543 (науковий керівник проф. Курант В. З.), міжнародного проєкту NATO SPS Multiyear Research Project G6094 та проєкту МОН України від молодих вчених «Оцінка впливу мілітарного забруднення на безпечність річково-басейнових систем на основі біореакцій та математичного моделювання», що свідчить про високий рівень інтеграції досліджень як у науковий простір, так і в практичну сферу.

Згідно з вимогами, результати дисертаційної роботи повно опубліковані у виданнях, зокрема й тих які входять до фахових наукових видань України та до наукометричної бази Scopus.

Матеріали дисертаційної роботи неодноразово апробовані на міжнародних конференціях високого рівня.

Тому вважаю, що дисертаційна робота «Особливості ліпідного складу та стану антиоксидантної системи прісноводних риб за дії іонів кобальту» 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 від 12 січня 2022 р. № 44 (із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ № 341 від 21.03.2022), що висуваються до дисертацій, а Марків Віктор Степанович заслуговує на присудження наукового ступеня: доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», 09 «Біологія».

Завідувач
навчально-науково-виробничої
лабораторії ім. Кондратюка В.М.
кафедри гідробіології та іхтіології
Національного університету біоресурсів
і природокористування України,
кандидат біологічних наук, доцент,
старший науковий співробітник Петро ШЕВЧЕНКО