

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Гойванович Наталії Костянтинівни на тему «Біохімічні механізми порушень метаболізму у тканинах тварин під впливом афлатоксину В₁ та їх корекція введенням антиоксидантів», представлену до спеціалізованої вченої ради Д 35.368.01 Інституту біології тварин НААН на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Актуальність. Серед пріоритетних забруднювачів довкілля провідне місце належить токсичним метаболітам пліснявих грибів - мікотоксинам. Розвиток науки з усією очевидністю довів, що інтоксикація мікотоксинами є не лише реальною, а й загрозливою для здоров'я населення планети. За масштабами небезпеки хронічні токсикози перевершують усі відомі спалахи гострих форм таких отруєнь у різних країнах, які забрали життя багатьох тисяч людей.

Плісняві токсинотвірні гриби, які характеризуються величезною видовою різноманітністю, уражують сільськогосподарські рослини під час вегетації і можуть розвиватися на агропродукції під час зберігання. Потрапляючи в організм тварин з кормами, мікотоксини накопичуються у м'язовій тканині і тим самим забруднюють продукцію тваринництва. Вони зазвичай зберігаються в продуктах після технологічного оброблення і консервування.

Деякі мікотоксини індукують генетичні порушення та процеси канцерогенезу, інші мають тератогенний, ембріотоксичний, дисбактеріозний, алергенний, дерматонекротичний ефекти. Однак проблема мікотоксинів вивчається в Україні недостатньо і потребує детальних досліджень. Особливо це стосується афлатоксинів, продуктів вторинного метаболізму грибів роду *Aspergillus*, які за результатами наукових досліджень належать до найнебезпечніших природних отрут.

Метаболізм афлатоксинів достатньо вивчений. Він здійснюється переважно в печінці за участю мікосомальних оксидаз із змішаною функцією. Виникає метаболічна активація афлатоксину В₁ з утворенням

високореактивного ДНК-зв'язуючого метаболіту (2,3 – епоксиду), який має виражені канцерогенні та мутагенні властивості. У реалізації канцерогенного ефекту афлатоксинів має значення пошкодження лізосомальних мембран і взаємодія отрути з генетичним апаратом клітини. У науковій літературі переконливо доведено, що афлатоксини потенційно шкідливі для людини забруднювачі навколишнього середовища. Це підтверджено надзвичайно широким розповсюдженням штамів – продуцентів; значним поширенням афлатоксинів у продуктах рослинного й тваринного походження; великою кількістю тварин, чутливих до канцерогенної дії афлатоксинів; високою чутливістю клітин печінки і легенів людини до цитотоксичної дії афлатоксинів.

Одним із найшкідливіших природних токсинів є афлатоксин В₁, який поряд із іншими афлатоксинами часто забруднює тваринні корми за умов ураження їх токсиногенними грибами. У разі споживання кормів, забруднених мікроміцетами та синтезованими за їх участю афлатоксинами, у тварин відбувається низка порушень у діяльності життєвоважливих органів і систем. Це зумовлюється істотним впливом афлатоксинів на клітинний метаболізм.

Забруднення навколишнього середовища афлатоксинами, розповсюдження їх у продуктах рослинного й тваринного походження створює потенційну загрозу для здоров'я людини, призводить до економічних втрат внаслідок захворювань і смертності сільськогосподарських тварин. Використання контамінованих афлатоксинами кормів та продуктів харчування може призводити до небезпечних захворювань тварин і людини — афлатоксикозів. Симптомами хвороби є порушення функцій печінки, некроз, цироз, а у важких випадках — гостра печінкова недостатність і смерть.

Враховуючи поширеність афлатоксикозів у наш час доцільним є пошук ефективних засобів, здатних протидіяти метаболічним розладам та розвитку оксидативного стресу в організмі тварин, які зазнають впливу АFB₁ та інших афлатоксинів. Для зменшення негативного впливу афлатоксинів на організм тварин і людини не викликає сумніву використання препаратів, котрі

виявляють сорбтивні та антиоксидантні властивості, а також пробіотичні препарати. Таким дослідженням присвячена дана робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом наукових досліджень, виконаних згідно плану науково-дослідних робіт лабораторії обміну речовин імені С.З. Гжицького Інституту біології тварин НААН (наукова держбюджетна тема «Дослідити вплив пробіотичних штамів мікроорганізмів на ріст і життєдіяльність різних груп бактерій (протеолітичних, целюлолітичних, амілолітичних і метаногенних) в рубці молодняка великої рогатої худоби» (№ держреєстрації 0106U004162), де авторка є співвиконавцем досліджень.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи було вивчити вплив AFB1 за різних доз і способів введення на окремі ланки метаболізму у тканинах щурів та запропонувати способи їх корекції із використанням антиоксидантів.

Для досягнення поставленої мети було поставлено 5 завдань, які успішно вирішені ході виконання роботи.

Об'єктом дослідження стали біохімічні механізми розвитку метаболічних порушень під впливом афлатоксину B1 та їх корекція у тварин за допомогою антиоксидантів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше проведено комплексні дослідження біохімічних механізмів за різних доз та способів введення AFB1 у головному мозку, нирках, печінці, серцевому м'язі щурів. Встановлені залежності між зниженням активності енергетичних ензимів, змінами глутатіонової системи та активацією процесів ліпопероксидації в інтоксикованих AFB1 щурів. Вивчено механізми впливу препарату «Е-Селен» та біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на розвиток метаболічних порушень у щурів, уражених афлатоксином AFB1. Доведено, що введення AFB1 токсикованим тваринам досліджуваних антиоксидантів попереджає розвиток окиснювальних процесів в організмі, чим призводить до відновлення захисних систем та нормалізації боенергетичних процесів.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані Гойванович Н.К. результати дають можливість та підтверджують доцільність використання коригувальних препаратів «Е-Селен» та біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma*, що проявили антиоксидантні властивості за умов експериментального афлатоксикозу. Доведено, що щодобове введення біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* (1,5 мг/кг маси) за гострої інтоксикації AFB1 сприяє зменшенню негативного впливу токсину на метаболізм у тканинах, нормалізує активність ензимів антиоксидантного захисту й може бути рекомендована для профілактики розвитку афлатоксикозу.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені у науково-навчальний процес Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка, зокрема з дисциплін: «Біохімія», «Мікробіологія з основами вірусології», «Імунологія».

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною, завершеною науковою працею. Безпосередньо автором здійснено інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації. Відповідно до мети і завдань дисертаційної роботи автор самостійно виконала експериментальні дослідження, статистично опрацювала результати, сформулювала основні висновки роботи. Аналіз одержаних результатів та їх інтерпретацію, підготовку до друку публікацій за матеріалами дисертації здійснено разом із науковим керівником. Окремі дослідження виконано за участю співавторів публікацій, на що вказується в авторефераті.

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих роботах і авторефераті, а також їх апробації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 29 наукових праць, з них 7 статей у фахових наукових журналах, зазначених у переліку МОН України; 4 статті у зарубіжних наукових виданнях; 18 – у збірниках матеріалів і тез науково-практичних конференцій. Експериментальні дослідження повністю відображені у публікаціях дисертанта.

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій, їх достовірність. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків не викликають сумніву. Дослідження проведені на достатній кількості експериментального матеріалу з використанням сучасних методів аналізу та відповідають меті та поставленим завданням. Аналізуючи дисертаційну роботу, необхідно відзначити, що експериментальна частина виконана на високому науковому рівні, має теоретичне обґрунтування та супроводжується обговоренням отриманих результатів. Висновки відповідають завданням досліджень, які сформульовані у вступі, викладені чітко, стисло та відображають результати проведеної роботи, їх достовірність не викликає сумніву.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі, є перспективним для подальшого дослідження та впровадження у практичну ветеринарію.

Обсяг і структура дисертаційної роботи. Дисертація побувана за класичною схемою. Загальний обсяг роботи складає 162 сторінки і містить 12 рисунків та 24 таблиці. Робота Гойванович Н.К. складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), експериментальної частини власних досліджень (розділ 3), аналізу та обговорення результатів дослідження (розділ 4), загальних висновків, пропозиції виробництву та списку використаних джерел літератури. Список використаних джерел включає 316 найменувань, з них 36 кирилицею та 280 латиною.

У вступі обґрунтовано актуальність теми досліджень, сформульовано мету і завдання, визначено об'єкти та предмет досліджень, наведено основні наукові результати, їх новизну та практичну значимість, відомості про впровадження та апробацію результатів роботи, а також її структуру.

У **першому розділі** (огляді літератури), який складає 25 сторінок, Гойванович Н.К. аналізує літературні джерела щодо біологічних та токсичних ефектів впливу афлатоксинів на організм тварин та людини, розкриває молекулярні механізми дії афлатоксинів та дає метаболізм одного із основних мікотоксинів – афлатоксину В₁. Окрім того, авторкою детально проаналізовано джерела надходження до організму токсинів грибів роду *Aspergillus* та умови їх

росту, допустимі рівні у харчових продуктах і кормах та шляхи детоксикації. На нашу думку, деякі підрозділи в огляді літератури можна об'єднати (їх 6 – 1.1.2, 1.3, 1.4 та 1.5 описані лише на 3 сторінках). Загалом, розділ написаний грамотно та чітко.

У другому розділі наведено відомості про об'єкти дослідження, методи дослідження. Обгрунтовано терміни дослідження. Він складає 11 сторінок. Методики автором використані сучасні, уніфіковані та адекватні поставленій меті.

У третьому розділі наведено результати досліджень процесів пероксидного окиснення ліпідів та активності ензимів антиоксидантної системи та біоенергетичного метаболізму у різних тканинах щурів, отруєних афлатоксином В₁. У підрозділі 3.2 дисертанткою проаналізовано вплив препарату «Е-селен» на вищеназвані процеси та показники у головному мозку, печінці, нирках та серцевому м'язі щурів після отруєння їх афлатоксином. У підрозділі 3.3 авторкою проаналізовано вплив біомаси дріжджів *Phaffia rhodozyma* на окисні процеси та стан захисних систем в організмі щурів, отруєних афлатоксином.

Недоцільно, на нашу думку давати висновки після кожного підрозділу. Достатньо дати конкретні почергові висновки у кінці розділу 3. Розділ закінчується наведенням списку опублікованих праць дисертанткою за результатами експериментальних досліджень. На нашу думку, він дуже завантажений. Окремі праці можна було б дати у кінці підрозділів.

Розділ 4 « Аналіз результатів дослідження». А де їх обговорення? У цьому розділі авторка порівнює отримані результати із результатами, які відомі з літератури. Розділ складає 14 сторінок. Він написаний грамотно, логічно, щоправда, зустрічаються деякі повтори з огляду літератури.

Висновки, що випливають із отриманих результатів сформульовано чітко, логічно і відповідають поставленим завданням.

В цілому оцінюючи дисертаційну роботу позитивно, необхідно зробити деякі зауваження:

1. В огляді літератури, на нашу думку, можна було б об'єднати деякі підрозділи (1.1.1 та 1.1.2; 1.3 та 1.4 – кожен з них має по 3 сторінки).

2. У розділі 2 більш ґрунтовно треба пояснити вибір доз та термінів дослідження.

3. У розділі 3 (власні дослідження) необхідно стосовно показників користуватись одним терміном (вміст, концентрація та рівень – зустрічаються такі терміни стосовно одного і того ж показника).

4. Висновки зроблені після кожного підрозділу (вони обширні, неконкретні та розповідні).

5. Чому авторка не вивчала впливу коригувальних препаратів на активність енергетичних ензимів (лактатдегідрогенази та глюкозо-6-фосфатази)?

6. У розділі 4 "Аналіз результатів дослідження" зустрічаються повтори з огляду літератури.

7. У висновках, на нашу думку, необхідно було навести деякі цифри і показати вірогідність змін за умов ураження та застосування коригувальних препаратів.

8. Зустрічаються некоретні (здоров'я тварин) вирази, граматичні та стилістичні помилки.

Усі наведені зауваження не є суттєвими і не зменшують цінності роботи.

В ході дискусії хотілось би почути відповідь дисертантки на наступні запитання:

1. Чому, на Вашу думку, одноразове введення препарату «Е-селен» та віт.Е дає нетривалий позитивний ефект при визначенні активності неензимної ланки антиоксидантної системи?

2. Якими методами статистичної обробки результатів користувалась авторка і чи використовувались як параметричні, так і непараметричні методи дослідження ? (Методи статистичної обробки не наведені у дисертаційній роботі).

Відповідність дисертації вимогам ДАК «Порядок присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового

співробітника». Дисертаційна робота Гойванович Наталії Костянтинівни на тему «Біохімічні механізми порушень метаболізму у тканинах тварин під впливом афлатоксину В1 та їх корекція введенням антиоксидантів» є закінченим науковим дослідженням. За своєю актуальністю, новизною, обсягом, науковим рівнем і повнотою досліджень, достовірністю результатів і висновків, теоретичною та практичною значимістю, публікаціями у фахових виданнях дисертаційна робота відповідає вимогам щодо «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», а її автор Гойванович Наталія Костянтинівна заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Завідувач кафедри фармації ННІ ПО
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України», д.біол.наук



Особистий підпис _____

завіряю

Помічник ректора з кадрових питань
Тернопільського медуніверситету

проф. Фіра Л.С.