

## ВІДГУК

на дисертаційну роботу Богдана КОТИКА

«Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів на тлі дії Cr(VI)»,  
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань  
09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія

**Актуальність обраної теми.** Метали зі змінною валентністю, такі як хром, залізо, мідь, кобальт, нікель та інші мають широке практичне застосування в різних галузях промисловості. Водночас вони є одними з найпоширеніших забруднювачів довкілля, оскільки інтенсивно вивільнюються з промисловими викидами та побутовими відходами, потрапляючи у повітря, ґрунт та водойми. Хром (Cr) є особливо небезпечним металом-забруднювачем для всіх організмів, від мікроорганізмів до людини. Відомо, що хром може існувати в одинадцяти валентних станах, але основними валентними станами хрому у ґрунті та живих системах є  $Cr^{3+}$  та  $Cr^{6+}$ . Сполуки шестивалентного хрому широко використовуються в різних галузях промисловості, від металургії до виробництва шкіри і спалювання нафти та вугілля, і серед працівників цих галузей спостерігається висока частота отруєння сполуками Cr(VI). Одним з механізмів токсичності іонів хрому є їхня здатність індукувати розвиток оксидативного стресу в живих організмах, що супроводжується ослабленням антиоксидантного захисту та окисненням багатьох важливих біомолекул із втратою функцій останніми. Хронічна інтоксикація хромом організму людини, зрештою, може призвести до різноманітних захворювань, зокрема раку. Оскільки повністю відмовитися від хромованих виробів та використання хрому неможливо, важливим залишається пошук ефективних шляхів послаблення та запобігання токсичності хрому за умов як гострого, так і хронічного впливу. У зв'язку з цим, дисертаційна робота Богдана Котика, яка присвячена дослідженню здатності етилтіосульфанілату та вітаміну Е модулювати токсичність хрому в організмі модельних щурів без сумніву є актуальною та потрібною у практичному відношенні. Варто відзначити, що захисні властивості етилтіосульфанілату на тлі токсичності сполук хрому недосліджені, проте ця сполука показала добрі антиоксидантні властивості, відносну стабільність та нетоксичність для організму у попередніх дослідженнях. Це доводить доцільність дослідження, обраного дисертантом.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась згідно з планами науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН упродовж 2017–2023 років відповідно до тематики 35.00.02.04.Ф. ДР №0116U001413 «Вивчити фізіолого-біохімічні механізми дії біологічно активних речовин на метаболічні процеси в організмі тварин».

**Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Для досягнення поставленої мети дисертантом вдало сплановані та якісно проведені експерименти, які дозволили отримати вичерпні відповіді на поставлені

завдання. Сформульовані у роботі положення і твердження є добре обґрунтованими, обговорені в достатній мірі і співставлені з відповідними експериментальними роботами в галузі, чому сприяє значний обсяг проаналізованих літературних джерел останніх років. Застосування статистичних методів аналізу підтверджує достовірність отриманих результатів. Результати та висновки відповідають поставленій меті і завданням дисертаційної роботи. Набір лабораторних експериментальних методів та методик є оптимальним для реалізації поставлених завдань. Робота написана державною мовою, а отримані висновки є достатньою мірою логічними, послідовними та обґрунтованими. Основні положення і висновки роботи у повній мірі відповідають спеціальності 091 – Біологія та біохімія.

**Структура дисертації.** Загальний обсяг дисертації - 214 сторінок, набраних на комп'ютері відповідно до вимог до оформлення дисертації. Складається робота зі анотації двома мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, переліку використаних джерел, який включає 325 джерел (з них 307 англomовні) та додатків. Робота ілюстрована 11 рисунками та 22 таблицями.

**Анотація** адекватно висвітлює зміст всіх розділів дисертації.

**В огляді літератури** доцільно розглядаються токсичні ефекти іонів хрому (IV) на організм тварин та людини, а також аналізується наявна інформація щодо механізмів токсичності Cr (IV) з фокусом на його прооксидантні властивості. Також дисертант описує біологічні ефекти та механізми дії естерів тіосульфокислот та вітаміну E. Загалом, дисертантом системно проаналізована достатня кількість літературних джерел, зокрема останніх років, що вказує на те, що дисертант добре володіє матеріалом.

Розділ «**Матеріали та методи дослідження**» детально описує усі експериментальні процедури та методи досліджень, використані у роботі. Зокрема, чітко описано дизайн експериментів та протоколи методів для визначення про-/антиоксидантного статусу тканин, біохімічного аналізу крові та гематологічного аналізу. У роботі використаний широкий спектр методів (спектрофотометричні, хроматографічні та гематологічні методи, атомно-абсорбційний аналіз, методи математичної статистики). Методи підбрані адекватно та дозволили дати відповідь на поставлені завдання.

**Розділ 3** складається з 3 підрозділів, які описують послідовно отримані експериментальні результати та їх обговорення.

**Підрозділ 3.1.** представляє результати, отримані при вивченні впливу етилтіосульфанілату на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI), а саме: на стан про-/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів, на гематологічні параметри крові та на окремі показники ліпідного та протеїнового метаболізму у крові щурів.

У **підрозділі 3.2** описано результати по впливу етилтіосульфанілату в поєднанні з вітаміном E на метаболічні процеси в організмі щурів за умов токсичної дії Cr(VI), а саме: на стан про-/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів, на гематологічні параметри крові та на окремі показники ліпідного метаболізму у крові щурів.

У підрозділі 3.3. наводяться результати досліджень по впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е на вміст хрому у тканині печінки щурів за умов інтоксикації Cr(VI).

У розділі 4 наведено детальний аналіз та узагальнення результатів дослідження по впливу етилтіосульфанілату окремо та в поєднанні з вітаміном Е на стан про/антиоксидантної системи в крові та тканинах щурів, на гематологічні параметри крові та на окремі показники білкового метаболізму та ліпідного профілю крові щурів.

На основі результатів проведеного дослідження дисертантом сформульовано 7 висновків, які відповідають поставленим завданням.

**Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів.** Серед низки отриманих результатів дослідження відзначаються найбільш вагомими та отриманими вперше. З використанням модельних тварин (щурів) дисертантом розширено уявлення про механізми токсичності іонів шестивалентного хрому, зокрема про часові аспекти впливу іонів хрому на різні тканини (нирки, печінку) та гематологічні і біохімічні показники крові щурів. У ході вивчення динаміки біохімічних маркерів гепато- та нефротоксичності в крові при введенні етилтіосульфанілату (100 мг/кг) та вітаміну Е (20 мг/кг), було встановлено, що ці речовини в досліджуваних дозах не мають токсичних ефектів та добре засвоюються організмом щурів. Вперше було підтверджено, що вплив етилтіосульфанілату окремо та в поєднанні з вітаміном Е проявляє виражений протекторний ефект щодо токсичної дії біхромату калію. Встановлено, що досліджені сполуки стимулювали антиоксидантні резерви у крові та тканинах щурів, сприяючи нормалізації ліпідного та протеїнового обміну та стабілізації біохімічних маркерів ушкодження печінки та нирок. Також показано, що спостерігалася стабілізація гематологічного профілю інтоксикованих щурів. Отримані результати свідчать про те, що етилтіосульфанілат окремо та у комбінації з вітаміном Е може бути використаний у розробці терапевтичних підходів для профілактики та корекції інтоксикації, спричиненою дією Cr(VI).

**Повнота викладу основних наукових положень.** Відповідає встановленим вимогам Міністерства освіти і науки України. За результатами дисертації опубліковано 7 наукових праць, у тому числі 4 статті у виданнях, які індексуються у базі даних Scopus, та 3 статті у фахових журналах категорії Б, а також 15 матеріалів і тез доповідей на з'їздах і конференціях. Аналіз тексту дисертації, не вказує на те, що в дисертаційній роботі може бути наявний плагіат чи фальсифікації, у подачі матеріалу простежується особистий стиль автора.

#### **Дискусійні питання, побажання та зауваження:**

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є ряд питань дискусійного або уточнювального характеру та зауваження до оформлення.

1. «Накопичення активних форм кисню», «накопичення вільних радикалів» - невдалі терміни, оскільки активні форми кисню та вільні радикали – короткоживучі і вони не можуть накопичуватися, може зростати їх

стаціонарний рівень внаслідок дисбалансу між їхньою продукцією, знешкодженням і взаємодією з іншими біомолекулами.

2. В анотації та вступі вказано, що етилтіосульфанілат є аналогом природних сульфуроорганічних БАР рослинного походження, проте варто було б тут згадати приклади цих речовин і їх біологічну роль, щоб було більш зрозуміло, чому обрали синтетичний аналог цих сполук.
3. У вступі та на початку огляду літератури автор стверджує, що Cr(III) є нетоксичним і потрібним для організму («У процесі внутрішньоклітинного відновлення Cr(VI) до нетоксичної форми Cr(III)... який є незамінний компонент в усіх біологічних системах». Водночас, вже по ходу огляду літератури автор пише, що Cr(III) вже є відповідальним за мутагенну дію хрому. Від чого може залежати корисна і токсична дія іонів Cr(III)?
4. У багатьох місцях огляду літератури подана одна й та сама інформація, проте іншими словами, зокрема та інформація, яка стосується перетворень Cr до різних валентних станів та ролі цих перетворень у продукції активних форм кисню, а також щодо ролі відновленого глутатіону у знешкодженні активних форм кисню. Водночас, в огляді літератури варто було б додати підсумки – чому власне етилтіосульфанілат та вітамін E були обрані для модуляції токсичності іонів хрому. Власне ці підсумки наявні у вступній частині до розділу «Аналізу та узагальнення результатів», але були б більш доречними в огляді літератури.
5. У роботі вивчались кілька факторів, то який саме варіант ANOVA був використаний для статистичного аналізу (одно-, дво- чи трьохфакторний?). Яку програму використовували для статистичного аналізу? (в Excel немає ANOVA).
6. Чому запобігання гіперактивності СОД і каталази за впливу етилтіосульфанілату та вітаміну E на тлі дії іонів хрому слід вважати захисним ефектом, при цьому якщо ще й рівень продуктів окислення ліпідів залишається вищим за контрольні значення?
7. Чи були візуальні відмінності у органах щурів різних дослідних груп? – н-д, розміри та колір печінки?
8. Як пояснити, що Cr(VI) у другому експерименті (ті ж самі умови обробки) спричиняв більш виражені окисні пошкодження у крові щурів, ніж у першому?
9. У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» повторюється загальна інформація з огляду літератури (обсяг 4 сторінки), що є зайвим, акцент мав би бути на аналізі власних результатів і використанні літератури лише для пояснення отриманих результатів. І власне у розділі «Аналіз та узагальнення результатів» і не вистачає узагальнення. Дисертант тут проводить детальний аналіз результатів по тих блоках показників, які вивчались, але не достатньо узагальнює ці блоки у комплексі. Тому, у мене, наприклад, виникає питання – на які ж органи/тканини (печінка, нирки, плазма крові чи еритроцити) іони хрому шестивалентного мали більш токсичний вплив чи можливо, за тестованими показниками – це неможливо було чітко оцінити? І відповідно, де проявлявся кращий захисний ефект етилтіосульфанілату та вітаміну E? І чи була комбінація етилтіосульфанілату з вітаміном E більш ефективною у

запобіганні токсичних ефектів іонів хрому, ніж сам етилтіосульфанілат? Доречною б була узагальнююча схема.

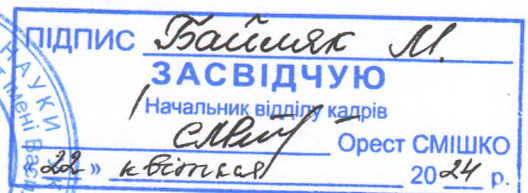
10. Автором отримано цікаві результати, проте значна частина їх пояснюється на основі припущень. Так, зростання рівня загальних ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів за впливу іонів Cr(VI) автор пояснює можливою гіперактивацією ензимів, залучених у процесах анаболізму та акумуляції ліпідів у відповідь на оксидативний стрес. Водночас, на мою думку, тут може бути дещо інша ситуація. Підвищення продукції активних форм кисню може інактивувати аконітазу – фермент циклу Кребса із залізо-сірчанним кластером, який дуже чутливий до окислення, і як результат гальмується цикл трикарбонових кислот і надлишок ацетил-КоА перенапрямається на синтез ліпідів. Веду до того, що ця робота має перспективи подальших глибших досліджень.
11. У роботі наявні дрібні друкарські огріхи, відсутність ком, русизми як-от: «в основному» замість «здебільшого, переважно», «у свою чергу» замість «своєю чергою»; «згідно отриманих» замість «згідно з отриманими». Є неточності у формулюванні фраз, н-д, «тіольні груп (-SH), які входять до складу аскорбінової кислоти», «з метою відновлення пулу амінокислоти гамма-глутамілцистеїну, яка є ключовим компонентом для синтезу ВГ», «Лейкоцити, г/л»... Англійська анотація містить деякі технічні та стилістичні помилки.

Загалом, наведені коментарі не знижують цінність роботи та не впливають на загальну оцінку.

### Висновок

Загалом, вважаю що, за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки та розв'язанням проблем і практичним значенням дисертаційна робота Богдана Івановича Котика «Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів на тлі дії Cr(VI)», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., №44 та Постанови Кабінету Міністрів України «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів» від 19 травня 2023 р., № 502, а здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

Опонент  
доктор біологічних наук, професор  
завідувач кафедри біохімії та біотехнології  
Прикарпатського національного університету  
імені Василя Стефаника



Марія БАЙЛЯК