

Рецензія

офіційного рецензента кандидата біологічних наук Стефанишин Ольги Михайлівни, старшого наукового співробітника Інституту біології тварин НААН, на дисертаційну роботу КОТИКА БОГДАНА ІВАНОВИЧА на тему «Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі щурів на тлі дії Cr(VI)» на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія», галузь знань 09 «Біологія», що подана в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.007 Інституту біології тварин НААН

1. Актуальність теми дисертаційного дослідження.

Хром шестивалентний (Cr(VI)) є поширеним представником важких металів та класифікується як глобальний забруднювач навколишнього середовища, який підвищує ризик кількох типів раку та все частіше визнається нейротоксикантом. Агентство з охорони навколишнього середовища США (USEPA) включило Cr(VI) до пріоритетних забруднюючих речовин у зв'язку з стійкими токсичними властивостями та переважно незворотним характером негативного впливу. Оксидативний стрес є одним із основних механізмів Cr(VI)-індукованої токсичності, який характеризується дисбалансом між процесами продукування активних форм Оксигену (АФО) та Нітрогену (АФН) та здатністю системи антиоксидантного захисту (АОЗ) нейтралізувати відповідні вільні радикали. Система АОЗ клітини відіграє ключову роль у протидії негативним наслідкам Cr(VI)-індукованого окисного стресу в біологічних системах.

Природні сульфуроорганічні біологічно активні сполуки, екстраговані переважно з рослинних організмів, зарекомендували себе як ефективні протектори по відношенню до оксидативного стресу та токсичної дії Cr(VI) зокрема. Проте, деякі дослідження вказують на те, що відповідні сполуки характеризуються низькою молекулярною стабільністю, здатністю проявляти побічні та токсичні ефекти у певних дозах та за певних періодів впливу. Саме тому, актуальним завданням є пошук стабільних аналогів, які максимально ефективно протидіють інтоксикації Cr(VI) та водночас легко засвоюються організмом без ризиків та побічних ефектів. Проте, дуже мало відомо про ефективність тіосульфонатів у протидії оксидативному стресу індукованому токсичною дією важких металів та Cr(VI) зокрема.

Зважаючи на позитивні антиоксидантні властивості ЕТС, його економічну доступність та низьку токсичність, актуальним завданням залишається дослідження особливостей впливу ЕТС на метаболічні процеси в організмі за умов Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу.

Вітамін Е вважається найефективнішим жиророзчинним неензиматичним антиоксидантом, який захищає клітинну мембрану від радикал-індукованого

пероксидного окиснення. Вітамін Е ефективно протидіє Cr(VI)-індукованій токсичності шляхом активації ензимів системи АОЗ, пригнічення процесів окисної модифікації ліпідів, зниження інтенсивності запалення, гепато- та нефротоксичності. Тому, враховуючи основні біохімічні особливості дії ЕТС та вітаміну Е, є актуальним досліджувати їхній вплив на метаболічні процеси в організмі тварин за умов інтоксикації $K_2Cr_2O_7$.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дослідження, які входять до дисертаційної роботи були проведені упродовж 2017–2023 років згідно планів науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН відповідно до тематики 35.00.02.04.Ф. ДР №0116U001413 «Вивчити фізіолого-біохімічні механізми дії біологічно активних речовин на метаболічні процеси в організмі тварин», у якій дисертант був співвиконавцем відповідного завдання та досліджував біохімічні і метаболічні особливості впливу ЕТС та вітаміну Е на про/атиоксидантний статус, ліпідний та протеїновий обмін, гематологічні параметри крові за умов $K_2Cr_2O_7$ -індукованого оксидативного стресу.

3. Ступінь обґрунтування основних положень і висновків сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Наукові положення, висновки та практичні рекомендації обґрунтовані належним чином. Для виконання поставлених завдань було проведено дослідження в декілька етапів. Для досягнення поставленої мети було сплановано та проведено 2 серії експериментальних досліджень. У першій серії досліджень було сформовано 7 груп лабораторних щурів-самців лінії *Wistar* (130-140 г) з розрахунку по 5 тварин на кожну групу: I – контроль; II – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину; III, IV – тварини, яким внутрішньоочеревинно вводили 150 мкл розчину $K_2Cr_2O_7$ у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 і 14 діб відповідно; V – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла протягом 14 діб; VI, VII – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб, після чого проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію 150 мкл розчину $K_2Cr_2O_7$ (2,5 мг Cr(VI)/кг) протягом 7 і 14 діб відповідно.

Під час другої серія досліджень було сформовано 8 груп лабораторних щурів-самців лінії *Wistar* (130-140 г) з розрахунку по 5 тварин на кожну групу: I – контроль; II – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину; III, IV – тварини, яким внутрішньоочеревинно вводили 150 мкл розчину $K_2Cr_2O_7$ у дозі 2,5 мг Cr(VI)/кг маси тіла протягом 7 і 14 діб відповідно; V – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг) протягом 14 діб; VI – тварини, яким внутрішньошлунково

вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг) та ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб; VII, VIII – тварини, яким внутрішньошлунково вводили 1000 мкл олійного розчину вітаміну Е (20 мг/кг) та ЕТС (100 мг/кг) протягом 14 діб, після чого проводили внутрішньоочеревинну ін'єкцію 150 мкл розчину $K_2Cr_2O_7$ (2,5 мг Cr(VI)/кг) протягом 7 і 14 діб відповідно.

Щоденні одноразові введення розчину $K_2Cr_2O_7$ (розведення в 0,9% NaCl) протягом 7-ми та 14-ти добового періодів зумовлювали виникнення Cr(VI)-індукованого оксидативного стресу у лабораторних щурів. Для підтвердження стану оксидативного стресу проводили вимірювання показників інтенсивності процесів окисної модифікації ліпідів та протеїнів у крові та тканинах тварин.

Проводили дослідження особливостей впливу ЕТС окремо та поєднанні з вітаміном Е на процеси окисної модифікації ліпідів та протеїнів, стан системи антиоксидантного захисту, окремі ланки ліпідного, протеїнового обміну та гематологічні параметри в організмі лабораторних щурів за умов $K_2Cr_2O_7$ -індукованої інтоксикації.

В дисертації наведена достатня кількість таблиць, рисунків, що покращує сприйняття роботи, узагальнює фактичний матеріал і підтверджує, що отримані результати наукового дослідження вірогідні та обґрунтовані.

4. Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.

З огляду на позитивну динаміку біохімічних маркерів гепато- та нефротоксичності у крові за умов введення ЕТС (100 мг/кг) та вітаміну Е (20 мг/кг), встановлено, що відповідні сполуки у досліджуваних дозах не проявляють токсичних ефектів та добре засвоюються організмом. Вперше з'ясовано, що вплив ЕТС окремо та в поєднанні з вітаміном Е характеризується вираженим протекторним ефектом по відношенню до токсичної дії $K_2Cr_2O_7$. Встановлено, що антиоксидантний ефект ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е сприяв зниженню інтенсивності процесів окисної модифікації ліпідів, протеїнів за умов інтоксикації Cr(VI) у плазмі крові та тканинах щурів. Вплив досліджуваних сполук стимулював антиоксидантні резерви у крові та тканинах щурів шляхом підвищення вмісту ВГ, стабілізації активності антиоксидантних ензимів за різних періодів інтоксикації $K_2Cr_2O_7$, а також сприяв зниженню рівня акумуляції Хрому у печінці тварин. Вперше з'ясовано, що антиоксидантний ефект досліджуваних сполук сприяв нормалізації ліпідного та протеїнового обміну у крові щурів з Cr(VI)-індукованим оксидативним стресом за рахунок зниження інтенсивності гіперліпідимії, стабілізації біохімічних маркерів ушкодження печінки (амінотрансферази, лужної фосфатази, загального протеїну) та нирок (креатиніну, сечовини). Виявлено стабілізацію гематологічного профілю інтоксикованих щурів за дії досліджуваних сполук, який проявляється у зниженні інтенсивності Cr(VI)-індукованої деградації еритроцитів та лейкоцитів крові лабораторних щурів.

5. Теоретичне та практичне значення роботи й впровадження отриманих результатів.

У дисертації експериментально обґрунтовано позитивний поєднаний вплив ЕТС та вітаміну Е на регуляцію метаболічних процесів в організмі щурів інтоксикованих Cr(VI). Встановлено, що інтенсивність $K_2Cr_2O_7$ -індукованої гемато-, гепато- та нефротоксичності щурів значно знижуються за умов попереднього введення ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е. Отримані дані про протекторні властивості ЕТС та вітаміну Е за умов інтоксикації Cr(VI) можуть бути використані у розробці терапевтичних підходів для профілактики виникнення та корекції токсичних станів спричинених дією Cr(VI). Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальний процес на кафедрі біології та хімії факультету здоров'я людини та природничих наук Дрогобицького державного педагогічного університету ім. І. Франка, кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Інституту хімії та хімічних технологій Національного університету «Львівська Політехніка», кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету.

6. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 7 наукових статей (4 статті у виданнях, які індексуються у міжнародних наукометричних базах Scopus / Web of Science та 3 статті у фахових журналах категорії Б), 15 тез доповідей на вітчизняних, міжнародних та закордонних наукових конференціях, конгресах, форумах.

7. Обсяг та структура роботи, оцінка змісту дисертації та її завершеність.

Рукопис роботи Котика Богдана Івановича складено за загальноприйнятою схемою і вимогами до дисертацій. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та додатків. Викладено на 214 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 11 рисунками та 22 таблицями. До списку літератури входить 325 джерел.

У вступі здобувач розкриває актуальність обраної теми дослідження, чітко сформульована мета і завдання дослідження, показані наукова новизна, теоретична і практична значимість отриманих результатів, особистий внесок здобувача.

В огляді літератури проаналізовані дані з наукових джерел, які висвітлюють порушення метаболічних процесів за впливу Cr(VI), взаємозв'язок будови та біохімічні особливості дії естерів тіосульфокислот, роль вітаміну Е та

його вплив на метаболічні процеси в організмі, з чого витікає актуальність досліджень впливу на метаболічні процеси в організмі тварин за умов інтоксикації $K_2Cr_2O_7$

У розділі 2 «Матеріал і методи» автор подає об'єкти і передумови досліджень, схему досліджень та опис комплексу застосованих сучасних методик – у роботі використано біохімічні (концентрація продуктів окисної модифікації ліпідів та протеїнів, активність ензимів антиоксидантного захисту та протеїнового обміну, вміст ВГ, гемоглобіну, протеїну, креатиніну, сечовини), хроматографічні (вміст загальних ліпідів та їх окремих класів), гематологічні (кількість еритроцитів та лейкоцитів), фізичні (атомно-абсорбційний аналіз) та статистичні.

Розділ 3 дисертант присвятив дослідженню впливу ЕТС окремо та в поєднанні з вітаміном Е на стан системи антиоксидантного захисту у крові та тканинах щурів за умов $Cr(VI)$ -індукованого оксидативного стресу. Представлено дослідження вмісту продуктів окисної модифікації ліпідів та протеїнів у крові та тканинах щурів з $Cr(VI)$ -індукованим оксидативним стресом за дії ЕТС як окремо, так і поєднано з вітаміном Е. Проаналізовано окремі гематологічні параметри щурів з $Cr(VI)$ -індукованою інтоксикацією за впливу ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е, а також досліджено вміст загального Хрому у печінці щурів з $Cr(VI)$ -індукованим оксидативним стресом за дії ЕТС як окремо, так і поєднано з вітаміном Е. З огляду на позитивну динаміку біохімічних маркерів гепато- та нефротоксичності у крові за умов введення ЕТС (100 мг/кг) та вітаміну Е (20 мг/кг), встановлено, що відповідні сполуки у досліджуваних дозах не проявляють токсичних ефектів та добре засвоюються організмом.

В розділі 4 обговорення результатів дослідження наведено аналіз проведених результатів досліджень та співставлення їх з даними літератури, автор обґрунтовує вплив ЕТС окремо та у поєднанні з вітаміном Е, який сприяв відсотковому зниженню акумуляції продуктів ПОЛ та КПП, частковій нормалізації показників системи АОЗ у крові, печінці, нирках та окремих параметрів ліпідного, протеїнового обміну у крові щурів за умов $K_2Cr_2O_7$ -індукованої токсичності.

За результатами роботи зроблено 7 висновків, які відповідають отриманим результатам.

Список використаних джерел складено згідно з існуючими вимогами із чітким дотриманням діючих правил щодо бібліографічних посилань.

8. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності.

При рецензуванні дисертаційної роботи не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації, текстових запозичень чи інших порушень. Усі ідеї та положення, викладені у дисертаційній роботі, належать автору.

9. Зауваження і побажання щодо змісту та оформлення дисертації.

Не зважаючи на усі позитивні моменти дисертаційної роботи Котика Б.І. проте є деякі зауваження і побажання і після аналізу роботи виникли деякі дискусійні питання, на які варто почути відповідь дисертантки:

1. У дисертаційній роботі зустрічаються стилістичні і граматичні погрішності.
2. Чим Ви керувалися при підборі доз використаних у ваших дослідженнях сполук?
3. Яка напівлегальна доза сполук Cr(VI), оскільки LD₅₀ етилтіосульфонілату у дисертаційній роботі вказана?
4. Як можете пояснити, що за 7-добової інтоксикації Cr(VI) є вірогідна гіперактивація СОД і КАТ, а за 14-добової були лише вірогідні підвищення, проте не такі високі?
5. Чому ГП, ГР та вільний глутатіон за 7-добової інтоксикації Cr(VI) підвищувалися, а за 14-добової інтоксикації відбувалося зниження ГП і вільного глутатіону?
6. Чому на вашу думку КАТ активність знижувалася за 14-добової інтоксикації при попередній дії ЕТС?
7. У висновках потрібно константувати лише вірогідні значення.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Котика Богдана Івановича на тему «Біохімічні особливості впливу етилтіосульфанілату та вітаміну Е на метаболічні процеси в організмі шурів на тлі дії Cr(VI)» на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія», галузь знань 09 «Біологія», що подана в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.007 Інституту біології тварин НААН, за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичним значенням одержаних досліджень та висновків 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 з урахуванням змін згідно Постанови Кабінету Міністрів України від 19 травня 2023 р. № 502, а її автор, Котик Богдан Іванович заслуговує на присудження ступення доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія», галузь знань 09 «Біологія».

Рецензент:

провідний науковий співробітник
лабораторії фізіології, біохімії та
живлення птиці Інституту біології
тварин НААН, кандидат біологічних
наук, ст. н. с.



Ольга СТЕФАНИШИН

Підпис к.б.н., с.н.с. Стефанишин О.М.
завіряє вчений секретар Інституту біології
тварин НААН



Оксана СМОЛЯНІНОВА