

Відзив офіційного опонента

на дисертаційну роботу **Грабовського Степана Стефановича «Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забоєм»**, поданої до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Дисертаційна робота С.С. Грабовського присвячена визначенню негативних біологічних наслідків дії стресу у тварин перед забоєм і розробці шляхів часткового усунення цих наслідків за допомогою біологічно активних речовин природного походження. Оскільки людство ще тривалий час споживатиме традиційні продукти тваринництва, ця проблема збереже свою **актуальність**.

Роботу виконано на стику **2-х наукових спеціальностей** – біохімії і харчової біотехнології, але така ситуація є швидше позитивом, ніж недоліком, оскільки більшість сучасних наукових досліджень проводяться саме на стику кількох спеціальностей і вичленити головну з них часто буває складно.

Дисертаційну роботу виконано у Львівському національному університеті ветеринарної медицини і біотехнологій імені С.З. Гжицького на кафедрі біологічної і загальної хімії в рамках теми, затвердженої Міністерством аграрної політики і продовольства «Обґрунтування впливу біологічно активних речовин на регуляцію клітинного метаболізму, імунної системи організму тварин і птиці в умовах стресу (номер держреєстрації 0114U000788), і, частково, через докторантуру відповідно до програми підготовки спеціалістів вищої кваліфікації. Дисертант вказує у вступній частині автореферату, що робота виконувалася впродовж 2000-2016 р.р., хоча перші три статті у списку статей за темою дисертації, опубліковані 2007 р., 2010 р. і 2011 р., відповідно, а останні дві статті у списку робіт опубліковані у 2016 р. Тому доцільно було вказати саме термін з 2006 до 2016 р.р., як строки виконання дисертаційної роботи.

Необхідно відзначити, що у списку робіт за темою дисертації міститься 15 статей без співавторів, що свідчить про значний особистий внесок дисертанта у виконання запланованих досліджень. Частину наукових досліджень за темою дисертації проведено у співпраці з іншими науково-дослідними установами м. Києва, у т.ч. із системи НАН України, й м. Львова у т.ч. із системи НАН України. Це дозволило автору суттєво підвищити науково-методичний рівень досліджень, проведених за темою дисертаційної роботи. Разом з тим, дисертанту доцільно було вказати, на яких засадах були проведені ці спільні дослідження – відповідно до особистої домовленості, чи відповідно до укладеної Угоди про науково-технічне співробітництво.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертаційна робота С.С. Грабовського була націлена на вирішення 2-х головних проблем: 1) фундаментальної, що полягала у характеристиці біологічних наслідків дії стресу у тварин перед забоєм; 2) біотехнологічної, що полягала у розробці шляхів часткового усунення цих наслідків за допомогою розробленої дисертантом рецептури біологічно активних речовин природного походження.

Стосовно 1-ї проблеми, необхідно підкреслити її комплексне вирішення, адже відповідні дослідження з використанням як лабораторних (щури), так і сільськогосподарських (кнурці, бугайці, кролики і курчата-бройлери) тварин. Тобто, це не лише модельні експерименти, але й дослідження, проведені під час реального технологічного процесу одержання м'ясної продукції. Необхідно також підкреслити інший аспект комплексності проведених досліджень, що полягає у використанні дуже широкого арсеналу **біохімічних експериментів** (визначення вмісту різних гормонів, активності ензимів і вмісту різноманітних метаболітів, а саме поліамінів, амінокислот, глутатіону, ліпідів окремих класів, фракцій протеїнів крові, жирних кислот та ін.), **імунологічних експериментів** (визначення кількості Т- і В-лімфоцитів, їхньої функціональної активності і показників неспецифічного імунітету, зокрема 3-х показників фагоцитарної активності) і **гістологічних експериментів**. Під час виконання дисертаційної роботи також проведені сучасні дослідження в галузі **фізико-хімічної біології**, зокрема, мас-спектрометричний аналіз хімічного складу розробленого автором роботи препарату з селезінки свині, а також в галузі **клітинної біології**, а саме цитофлуориметричний аналіз ознак апоптозу клітин крові піддослідних тварин.

Тому наукова новизна одержаних результатів є цілком обґрунтованою саме завдяки комплексному підходу в проведенні досліджень.

2-га із зазначених вище проблем висвітлена в матеріалі, викладеному у розділі «**Практичне значення одержаних результатів**». Він є конкретним та аргументованим, оскільки підкріплений 3-ма патентами України на корисну модель, а також Технічними умовами України на спосіб використання біологічно активних речовин препарату «Сплінактив». До речі, до цього розділу варто було також долучити матеріал останнього абзацу розділу «Наукова і науково-практична цінність роботи», що описує позитивний вплив споживання м'яса курчат-бройлерів із урахуванням їх стану перед забоєм на функціональні показники клітинного імунітету людини.

У роботі поставлено чітку, хоч і комплексну, **мету дослідження**, для досягнення якої автор запропонував вирішення **6-ти головних завдань**. При

цьому слід зазначити непропорційність цих завдань, а саме значно більшу масштабність завдань 1, 4 і 5, порівняно з об'ємом завдань 2, 3 і 6. Очевидно, було доцільним розділити першу групу завдань на менші і більш конкретні завдання для кращого сприйняття результатів дисертаційної роботи.

Слід відзначити велику користь, яку вносить в дисертаційну роботу Рисунок зі «Схемою проведених досліджень», які дозволяють краще сприйняти цілісність цієї роботи.

Під час виконання дисертаційної роботи автором використано великий арсенал **методів дослідження**, що, в цілому, адекватні спеціальності «біохімія», хоч і в ряді випадків вони виходять за межі цієї спеціальності. Як вже вказано вище, у роботі використовували імунологічні і гістологічні дослідження, а також методи фізико-хімічної і клітинної біології. Останні два методичні підходи, що полягали у мас-спектрометричному аналізі складу розробленої рецептури біологічно активних речовин і цитофлуориметричному аналізі ознак апоптозу клітин крові піддослідних тварин, особливо прикрасили рецензовану дисертаційну роботу, піднявши її на сучасний науково-методичний рівень.

За одержаними результатами **опубліковано** 38 наукових статей, включно із 24-ма статтями у фахових журналах у галузі біологічних наук. При цьому дивно, чому дисертант стверджує, що за матеріалами дисертації опубліковано 39 статей (див. стор. 5 автореферату). Серед нежурнальних публікацій – 3 Патенти України на корисну модель та 1 Технічні умови України. Серед 3-х закордонних статей лише 1 стаття опублікована на заході (Польща).

Разом з тим, необхідно відзначити домінування в списку публікацій за матеріалами дисертацій статей у різноманітних Вісниках університетів і науково-дослідних установ України. ДАК МОН України створив прецедент щодо можливості публікації статей у «так-зованих фахових виданнях», чим суттєво знизив вимоги до дисертаційних робіт у галузі природничих наук. У дисертаційній роботі Грабовського С.С. є кілька цікавих наукових знахідок, гідних до опублікування у статтях західних міжнародних журналів, але автор чомусь не скористався такою можливістю. За матеріалами дисертації зроблено 8 доповідей на вітчизняних і міжнародних наукових конференціях, хоча у розділі «Публікації» на стор. 5 Автореферату сказано про 7 таких доповідей. При цьому хотілося б почути від здобувача, на яких із цих конференцій він побував особисто і з якою доповіддю (усною чи стендовою) він там виступав.

Структура роботи є традиційною. **Зміст роботи** розписаний досить детально. Розділ 1 «**Огляд літератури**» (стор. 13–71, всього 59 сторінок) добре ілюстрований, що полегшує читання наведеного там матеріалу.

У Розділі 2 «**Матеріали і методи дослідження**» (стор 72–92, всього 21 сторінка) детально описані методи, використані в роботі, що може вказувати на добре володіння дисертантом цими методами.

Розділ 3 «**Результати експериментальних досліджень**» викладений на стор. 93–232 (всього 140 сторінок) і становить основну частину тексту дисертаційної роботи. Усі наведені тут результати дослідження були піддані статистичній обробці.

Розділ 4 «**Аналіз і узагальнення результатів досліджень**» викладений на стор. 233–274, (усього 42 сторінки). Тут зроблений ґрунтовний аналіз одержаних у роботі результатів, що вказує на добре знання автором літератури з проблематики дисертації. У кінці цього розділу є узагальнювальна схема з баченням автора роботи біохімічних механізмів, задіяних у періодах передзабійного стресу та адаптації лабораторних і сільськогосподарських тварин за використання препарату «Сплінактив» із селезінки свині.

За результатами проведених досліджень автором зроблено **15 висновків і 4 практичні рекомендації**. Висновки є достатньо конкретними і також свідчать про великий об'єм виконаної експериментальної роботи.

Крім того, у роботі представлено **8 додатків**.

Список використаних джерел налічує 741 найменування, із них 459 латиницею, що свідчить про те, що проблеми дисертаційної роботи Грабовського С. С. досліджувалися як за кордоном, так і в Україні.

Зауваження і запитання до дисертаційної роботи:

1) У тесті дисертаційної роботи зміщений акцент з проблеми біологічних (у т.ч. біохімічних) наслідків дії стресу у тварин перед забоєм на біотехнологічну проблему з розробки шляхів часткового усунення цих наслідків за допомогою препарату, що містить біологічно активні речовини природного походження. Це стосується і назви роботи, і її мети, і викладу «Наукової новизни одержаних результатів», і, навіть, висновків до роботи. Тому доцільно було б поміняти місцями 1 і 2 речення преамбули до Висновків. Разом з тим, фундаментальні аспекти дисертаційної роботи щодо характеристики біологічних наслідків дії стресу у тварин перед забоєм перебувають ніби в тіні перед описом результатів застосування препарату «Сплінактив». Ця обставина призвела до того, що ні в назві роботи, ні в її меті нема слова «біохімічний», хоча наявні результати роботи дозволяли це зробити.

2) Якщо дисертант довів вищу ефективність дії препарату селезінки, одержаного з використанням ультразвуку, то в чому ж тоді полягає доцільність паралельного вивчення 2-х препаратів (без обробки ультразвуком і після такої обробки). Очевидно, достатньо було вивчати лише препарат з

вищою ефективністю дії, адже саме його автор рекомендує для подальшого використання в зоотехнії. Тут також виникає запитання до автора: чому вихід одних жиророзчинних біологічно активних речовин за дії ультразвуку зростає (наприклад, арахідонова кислота і фосфатидилхолін), тоді як вихід інших жиророзчинних речовин за такої ж дії знижується (наприклад, *n-hexadecanoic acid*, *octadec-9-enoic acid*) (див. Таблицю 1 на стор. 13 автореферату).

3) У таблиці 10 на стор. 23 автореферату і в тексті дисертації наведені дані про зміни вмісту окремих амінокислот у грудному м'язі курчат-бройлерів. Якщо мова йде про вільні амінокислоти, можна зрозуміти, як це може відбуватися, але коли мова йде про амінокислоти тканинних білків, це передбачає перерозподіл їх біосинтезу чи/і розщеплення. Питання – які думки у дисертанта на цей рахунок.

4) У Висновку 12 сказано «У курчат-бройлерів перед забоєм зростає на 3% відносна кількість Т-хелперів», у достовірність чого важко повірити.

5) У Висновку 4 сказано «Зменшення вмісту аргініну, лізину й метіоніну в грудному м'язі курчат-бройлерів контрольної групи викликане необхідністю синтезу поліамінів у тварин в стані стресу перед забоєм». Це твердження є швидше за все є припущенням, а не висновком, бо в роботі такого дослідження не проводили.

6) У цьому ж висновку сказано «... різнився на 34,8%, хоча не виходив за межі норми». Питання – який зміст вкладає автор роботи в це твердження.

Інші редакційні зауваження:

1) На стор. 10 автореферату міститься некоректний вислів: «інсулін фіксували, використовуючи набір...».

2) Матеріал підрозділу «Експериментальне обґрунтування необхідності використання біологічно активних речовин у передзабійний період» у Розділі «Результати дослідження та їх обговорення» (стор. 11 автореферату) починається описом результатів визначення рівня кортизолу і адренкортикотропного гормону, що не відповідає вказаній назві відповідного підрозділу.

3) Над стовпчиками показників, наведених в авторефераті на рис. 6, 8, 9, не вказано діапазон коливання значення цих показників.

4) На стор. 15 автореферату сказано про «...значне потовщення капсули органа...» і це показано однією стрілкою, тоді як повинно бути мінімум дві стрілки, щоб побачити також «нормальну стінку капсули без потовщення».

5) На стор. 15 автореферату сказано «... селезінка щурів контрольної групи виглядала інтактною...». Питання – а якою вона повинна була виглядати?

6) На стор. 16 автореферату сказано «... лімфатичних вузлів із реактивними центрами...». Доцільно було пояснити, що означає «реактивність» для функціонування цих вузлів.

7) В тексті дисертаційної роботи та автореферату стосовно одного виду тварин у наведених результатах є 3 дослідні групи, тоді як щодо інших видів – 2 дослідні групи, а для бугайців – лише одна дослідна група. Без додаткового пояснення про суть цих різних дослідних груп, яке тут відсутнє, виникає плутаниця в інтерпретації наведених результатів.

8) У тексті дисертації та в авторефераті на стор. 22 вжито термін «функціональні амінокислоти» щодо аргініну, цистеїну, глутаміну, лейцину, проліну і триптофану. Питання – наскільки правомірним є такий термін і які у такому випадку амінокислоти є «нефункціональними».

9) На цій же сторінці автореферату сказано «знижується вміст поліамінів і амінокислот». Питання – про які саме амінокислоти говорить тут автор роботи.

10) У списку праць, опублікованих за результатами роботи, позиції 19, 21 і 22 містять назви статей українською мовою, тоді як вказані журнали друкуються в Російській Федерації.

Висновок. Дисертаційна робота **Грабовського Степана Стефановича «Адаптогенний вплив біологічно активних речовин препарату селезінки за умов стресу тварин перед забоєм»** за своїм об'ємом та актуальністю, науково-практичною цінністю, методичним рівнем, проведенням аналізом і зробленими висновками відповідає вимогам ДАК МОН України до докторських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент,

Завідувач відділу регуляції проліферації клітин та апоптозу

Інституту біології клітини НАН України,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НАН України

Стойка Р.С.

Львів, 16 січня 2017 р.

Підпис член-кореспондента НАН України Стойки Р.С. засвідчую:
Учений секретар Інституту біології клітини НАН України,
к.б.н.

Барська М.Л.

