

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Яковійчука Олександра Володимировича
**«Окисно-відновні процеси та жирнокислотний склад у м'язових тканинах
гусей в онтогенезі та за дії вікасолу»** на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 - біохімія

Дисертаційна робота Яковійчука Олександра Володимировича виконана на базі Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького Міністерства освіти і науки України згідно з планами науково-дослідних робіт Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького та держбюджетної теми «Обґрунтування механізмів антиоксидантного захисту птиці з метою управління її продуктивністю» (номер державної реєстрації 0112U002621).

Актуальність теми.

Представлена до захисту дисертаційна робота Яковійчука Олександра Володимировича присвячена дослідженню особливостей функціонування складових енергетичної та антиоксидантної систем, залучених до окислативно-відновних процесів у м'язових тканинах гусей в онтогенезі та за впливу вікасолу. На даний час з'ясування перебігу окисно-відновних процесів у клітинах, тканинах та органах організму, як в залежності від виду організму, так і від метаболічних змін, які відбуваються на різних етапах його розвитку, а також за впливу різних ендогенних та екзогенних чинників є актуальною проблемою. Для вирішення цієї проблеми важливим є виважений підхід до вибору адекватної експериментальної моделі тварин, птиці чи інших біологічних об'єктів, що дозволить з'ясувати яким чином можна модулювати порушення окислативно-відновних процесів для забезпечення фізіологічного функціонування організму. Це є необхідним за впливу різних екстремальних чинників, особливо за надмірного утворення активних форм Кисню (АФК), які за фізіологічних умов є внутрішньо- та міжклітинними месенджерами, а за патологічних станів призводять до порушень у транскрипції генів, диференціації, проліферації та рості клітин, а також впливають на функціонування системи антиоксидантного захисту. Для адаптації організмів за дії різних факторів, у тому числі таких представників птиці, як гуси, для яких характерним є високий рівень метаболізму, важливим є те, що перебіг біохімічних механізмів, які залучені до забезпечення компенсаторних реакцій, здійснюється як на метаболічному, структурному так і на функціональному рівні.

Функціонування ключових метаболічних шляхів організму, зокрема циклу трикарбонових кислот, гліколізу, β -окиснення жирних кислот в мітохондріях, а також ланцюгу транспорту електронів тісно пов'язано з перебігом оксидативно-відновних процесів. Саме тому, цілком обумовленими є адаптивні зміни у м'язових тканинах птиці, у тому числі гусей, в онтогенезі за умов переходу організму від гіпоксії їх ембріонального до гіпероксії постнатального розвитку. В зв'язку з цим увага науковців зосереджена на з'ясуванні перебігу оксидантно-відновних процесів в онтогенезі птиці, які також будуть в цей період зазнавати змін, корегування яких може бути перспективним для практичного застосування.

Беручи до уваги, що перехід від гіпоксії ембріонального до гіпероксії постнатального розвитку в онтогенезі птиці супроводжуватиметься змінами різних метаболічних процесів, не виключено, що інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів, то безперечно, відповідь організму буде обумовлена його адаптаційною здатністю, яка в свою чергу залежить як від метаболічного стану ембріону так і від його енергетичних потреб.

Разом із тим, для досягнення регульованого впливу на оксидантно-відновні процеси в онтогенезі м'язових тканинах птиці за умов їх змін, важливими є дослідження щодо з'ясування, метаболізм яких саме біомолекул може бути залучений до їх регуляторного впливу, і не тільки в тканинах птиці, гусей зокрема, але і в тканинах тварин за активації метаболічних процесів.

На даний час існують численні дані літературних джерел щодо важливої ролі ліпідів та жирних кислот у метаболізмі живих організмів. Так, ці біологічно активні сполуки залучені до енергетичних і сигнальних систем клітин, а також є структурними компонентами клітинних мембран, відіграючи важливу роль у перебігу та регуляції багатьох ключових біохімічних процесів в організмі. Тому актуальність даної дисертаційної роботи також полягає у з'ясуванні яку саме роль може відігравати залучення ліпідної компоненти у формуванні відповідної адаптивної реакції в онтогенезі птиці. Не виключено, що адаптивною відповіддю при переході від гіпоксії ембріонального до гіпероксії постнатального розвитку в онтогенезі птиці можуть бути порушення метаболізму ліпідів, а саме: зміни вмісту ліпідів, жирнокислотного складу та оксидантно-відновних процесів, однак, саме такі зміни забезпечуватимуть розвиток необхідних за цих умов пристосувальних біохімічних процесів. Дослідження цих змін сприятиме пошуку різних біологічно-активних сполук, застосування яких корегуватиме метаболічні зміни в онтогенезі гусей та буде залучено до регуляції оксидантно-відновних процесів. В кінцевому рахунку це дасть змогу підвищити продуктивність птиці, що сприятиме отриманню енергетично якісної харчової продукції, що є актуальним завданням не тільки з теоретичної точки зору, але й із практичної.

Одним із перспективних серед різних біологічно-активних сподук є вікасол (2-метил-1,4-нафтохінон сульфат), який може посилювати транспорт електронів через ланцюг транспорту електронів та вже знайшов застосування в якості протипухлинного препарату. Тому використання вікасолу для з'ясування його можливого залучення до регуляції оксидативно-відновних процесів у м'язових тканинах гусей в онтогенезі також є актуальним завданням цієї дисертаційної роботи.

Обґрунтованість наукових положень дисертації. Їх достовірність і новизна.

Яковійчук Олександр Володимирович обґрунтував актуальність обраної теми наукових досліджень як в теоретичному, так і в практичному аспекті та основні положення дисертації, підтвердженням новизни та достовірності яких є отримані результати за онтогенезу птиці. Автором проведені дослідження, які за їх об'ємом та методичними підходами дозволили отримати достовірні результати, систематизувати їх та сформулювати висновки. Наукове значення роботи полягає в тому, що вперше встановлено, що для підтримання балансу між метаболічними процесами, які забезпечують енергією тканини організму та процесами пероксидного окиснення ліпідів у м'язових тканинах гусей в онтогенезі відбуваються суттєві зміни в системі антиоксидантного захисту, що є свідченням активації вільно-радикальних процесів у гладкій та скелетній м'язовій тканині. Разом із тим, автором встановлено, що у міокарді в цей період більш виражено змінюються енергетичні процеси. Застосування вікасолу призводило до активації системи антиоксидантного захисту у гладкій та скелетній м'язовій тканині. Автором було оцінено жирнокислотний спектр у цих тканинах і було виявлено зниження вмісту ненасичених жирних кислот, у міокарді, скоріш за все як результат того, що загальний рівень ненасиченості і вміст ненасичених жирних кислот у цих тканинах під час досліджуваного періоду онтогенезу залежав від рівня споживання ними кисню. При переході до постнатального існування ненасиченість ліпідів у міокарді, була зниженою, при цьому у скелетних м'язах не були виявлені зміни, а у м'язах шлунку рівень ненасичених ліпідів підвищувався.

Використання вікасолу призводило до підвищення вмісту ненасичених жирних кислот та ненасиченості у посмугованих м'язах, зростання активності дегідрогеназ у міокарді та шлунку, і підвищення активності ензимів антиоксидантного захисту у м'язових тканинах, що супроводжувалося посиленням антиоксидантної активності цих тканин, що може бути одним із механізмів участі вікасолу в адаптації організму гусей за цього періоду. Ці результати дозволили автору встановити, що в онтогенезі узгодженість досліджених показників у різні терміни часу була найвища у м'язовій тканині

шлунку. За впливу вікасолу, навпаки, підвищувався рівень кореляції досліджених показників у міокарді та скелетних м'язах.

Експериментальні дані отримані в цій роботі мають фундаментальне наукове значення для з'ясування механізмів біохімічної адаптації в онтогенезі птиці та участі в цих процесах ліпідної компоненти та оксидативно-відновних процесів, що сприятиме розумінні шляхів перебігу біохімічних процесів в онтогенезі.

Науково-практична значимість роботи та конкретні шляхи використання результатів дослідження.

Результати проведених досліджень розширюють сучасні уявлення щодо особливості перебігу оксидантно-відновних процесів і порушень жирнокислотного складу у м'язових тканинах гусей в онтогенезі та за дії вікасолу. Автором встановлено, що введення в організм вікасолу *per os* може знайти застосування у сільськогосподарській та ветеринарній практиці в якості засобу для підвищення продуктивності сільськогосподарської птиці, та як профілактичний засіб для запобігання розвитку негативних наслідків у період онтогенезу, коли відбувається перехід від гіпоксії ембріонального до гіпероксії постнатального розвитку, що супроводжується найбільш вираженими змінами різних метаболічних процесів, зокрема оксидантно-відновних. Більше того, отримані результати можуть бути використані у навчальному процесі при розробці лекційних курсів та практичних занять з вивчення таких біологічних дисциплін, як біохімія, ембріологія та ветеринарія як для студентів біологічних спеціальностей, так і для студентів агробіологічного спрямування.

Структура роботи.

Результати роботи викладені на 220 сторінках друкованого тексту. Дисертаційна робота структурована та містить вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати досліджень та їхнє обговорення, розділ узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел, який налічує 214 посилань, у тому числі 177 латиницею. Дисертація ілюстрована 64 рисунками, містить 5 таблиць, та 12 додатків.

Слід зазначити, що автором особисто проведено значний обсяг досліджень та опрацьовано достатній згідно теми роботи об'єм вітчизняної та зарубіжної літератури (214 джерел).

Основний зміст роботи викладено на 133 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 5 таблицями та 64 рисунками.

У вступі до дисертаційної роботи автором висвітлено актуальність обраної теми роботи, її зв'язок з науковими програмами, планами, темами,

мета та завдання досліджень, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, апробація результатів роботи, а також публікації за темою дисертації.

У розділі огляд наукової літератури Яковійчук О.В. розглянув існуючі дані літературних джерел стосовно окисативно-відновних процесів в організмі птиці та у період їх онтогенезу, за якого відбуваються зміни метаболізму у різних тканинах організму. Викладення матеріалу в огляді є інформативним. Розглянуто значення системи антиоксидантного захисту у регуляції окисно-відновних процесів. Автором акцентована увага на чинниках, які здатні регулювати окисно-відновні процеси у клітинах тканин та проаналізовані існуючі джерела стосовно ролі вікасолу, як можливого модулятора досліджуваних процесів. Проаналізовано дані наукових джерел стосовно ролі ліпідів та жирних кислот в енергетичних процесах організму базуючись на їх вмісті та складі в організмі птиці. Особливо важливим є те, що висвітлені існуючі дані стосовно жирних кислот, як можливих субстратів окисно-відновних процесів. Аналіз літературних джерел продемонстрував важливу роль ліпідів і жирних кислот у розвитку адаптивної відповіді організмів в онтогенезі, однак в огляді зазначено, що дослідження організму птиці, зокрема гусей, за онтогенезу практично відсутні. Огляд літератури відповідає темі та меті дисертації, а розгляд поставлених у роботі завдань відповідає меті роботи.

У розділі 2 викладена інформація, яка стосується об'єкту, предмету, матеріалів та методів досліджень. У роботі автором використано достатній для вирішення поставлених завдань спектр сучасних фізико-хімічних та біохімічних методів дослідження, таких як: спектро- і фотокolorиметричний (вміст продуктів ліпопероксидації, активність ензимів, вміст білка), хроматографічний (жирнокислотний склад) та ряд методів математичної статистики (кореляційний, ранговий та кластерний аналізи).

Представлена до захисту дисертаційна робота Яковійчука О.В за обсягом отриманих результатів, які є новими як у теоретичному, так і в практичному аспекті відповідає вимогам, які висуваються до кандидатських дисертацій.

Базуючись на отриманих результатах, достовірність яких підтверджується застосуванням статистичного аналізу, автором сформульовані висновки, які відображають зміст виконаної роботи.

Основні положення дисертаційної роботи Яковійчука О.В. представлені в авторефераті та 17 наукових працях, з яких 7 статей, 5 статей з яких опубліковано у фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 1 стаття у закордонному наукометричному виданні та 10 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових міжнародних та національних конференцій.

На мій погляд, в контексті дискусії до дисертаційної роботи Яковійчука О.В. є ряд запитань, побажань та зауважень.

Не виключено, що перебіг кожного періоду онтогенезу залежить від індивідуальних особливостей ембріонів взятих від різних гусей, то чи не впливає це на вимірювані біохімічні показники ліпідного обміну та оксидантно-відновного стану у досліджуваних тканинах?

Як вважає автор, чи можуть досліджувані біохімічні показники обміну ліпідів та жирних кислот, а також показники оксидантно-відновних процесів в онтогенезі м'язових тканин гусей бути маркерами стадій онтогенезу птиці та слугувати для оцінки їх змін?

Що відомо стосовно стану білків в онтогенезі птиці, гусей зокрема, оскільки знижена засвоюваність білків також може призводити до зниження продуктивності птиці?

Відомо, що за гіпоксичного стану важливу роль у підтриманні організму, і не тільки птиці, енергетичним джерелом є глікоген, який депонується не тільки в печінці, але і в м'язах, які досліджувалися автором, то чи не є зміни в обміні ліпідів та жирних кислот за гіпокси-гіперокси умов онтогенезу не першопричиною, а опосередкованими?

Чому саме «Наведений кластер вказує ... жирнокислотного складу, як головного субстрату окисних процесів», стор. 9 автореферату?

На мій погляд, слід було жирнокислотний склад ліпідів у міокарді, скелетних м'язах та м'язах шлунку гусенят виражати (табл.1-6) автореферату не в % загальної кількості жирних кислот (93,87% табл.1, 98,4% табл 2 і т.д.), а в мг на білок відповідної тканини.

На мій погляд, також варто було визначити рівень глюкози в крові за досліджуваних умов онтогенезу, оскільки для мозку птиці глюкоза є основним енергетичним джерелом. Чи існують дані літератури відносно рівня глюкози в крові досліджуваних гусенят?

Чи існують дані щодо вмісту протеїну С, який є вітамін К-залежним глікопротеїдом плазми крові, за онтогенезу птиці, зниження вмісту якого може бути фактором ризику виникнення порушень балансу між про- та антикоагулянтною ланками системи зсідання крові?

У назві підписів до рис 9-11 не варто було вживати слово «Зміни», оскільки їх могло б і не бути.

Автором для інкубації були відібрані яйця гусей із зазначеним вмістом у жовтках вітамінів Е, А та його провітаміну β -каротину, на мій погляд, бажано було б у досліджуваних тканинах визначити вміст цих вітамінів.

В таблиці 2.1 «Показники що досліджувались» «Введені позначення», так наприклад лауринова кислота - G_1 , далі C_1 , V_1 та інші, яке обґрунтування автора щодо цих позначень?

Зазначені зауваження принципово не впливають на загальну позитивну оцінку представленої до захисту дисертаційної роботи Яковійчука Олександра

Володимировича «Окисно-відновні процеси та жирнокислотний склад у м'язових тканинах гусей в онтогенезі та за дії вікасолу». У роботі представлені нові науково обгрунтовані результати, які дозволили автору вирішити поставлені завдання, що свідчить про завершеність цієї роботи.

Висновок

Дисертація Яковійчука Олександра Володимировича відповідає вимогам п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), що висувуються до кандидатських дисертацій, а Яковійчук Олександр Володимирович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04– біохімія.

Офіційний опонент:

Доктор біологічних наук, професор,
провідний науковий співробітник
Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України

Т.М. Кучмеровська

Підпис *Т.М. Кучмеровська*
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"24" 11 2020 р.



Фоліо № 719
24 листопада 2020
Підпис *Т.М. Кучмеровська*