

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента на дисертацію Мохаммад Алі Юсеф Аль Бегаї «Вік-залежні особливості прояву гормезису до іонів міді» подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія**

**Актуальність теми.** Дисертаційна робота Мохаммад Алі Юсеф Аль Бегаї присвячена дослідженню біохімічних механізмів індукованої резистентності до сірчанокиислої міді, що забезпечує виживання тварин різного віку за екстремальних умов. Це питання є актуальним не лише для вирішення проблем геронтології, але й для розуміння біологічних проблем адаптації.

Дисертант привертає увагу на віддалені наслідки гормезисного ефекту до сірчанокиислої міді у крові та печінки молодих та старих тварин, опираючись на одну з найбільш обговорюваних гіпотез в геронтології – вільнорадикальну гіпотезу старіння. У зв'язку з цим, актуальним є дослідження ролі прооксидантно-антиоксидантної та імунної систем у цих процесах і можливих наслідків такої резистентності для організму, тобто виникнення вік-залежних патологій.

Метою даної роботи було вивчення ролі мідьзв'язуючих білків у механізмах індукованої резистентності до йонів міді, зв'язку гормезису з активністю про- та антиоксидантної системи, а також можливого взаємозв'язку між індукованою резистентністю та ймовірністю виникнення вік-залежних патологій (фіброзу печінки).

Об'єкт дослідження – мідьзв'язуючі білки, продукти вільнорадикального окиснення ліпідів та ферментні системи антиоксидантного захисту у клітинах печінки тварин різного віку, імунологічні показники організму.

Предмет дослідження – вік-залежний характер внутрішньоклітинного розподілу йонів міді та активність антиоксидантних ферментів у печінці та сироватці тварин у нормі, за умов довгострокового періоду інтоксикації йонами міді тварин різного віку.

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

Дисертаційна робота виконана у відділах біофізики мембран та молекулярної біології онтогенезу НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна в рамках дослідження ключових механізмів старіння.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій.**

Узагальнення автором літературних даних за обраною тематикою дозволяє добре зрозуміти актуальність проблеми та адекватність сформульованої мети та задач дисертаційного дослідження. Послідовність експериментальних досліджень, сучасні методи, що застосовані, цілком відповідають вирішенню поставлених задач. Зроблені автором висновки базуються на власних експериментальних даних. Все це свідчить про обґрунтованість наукових положень, висунутих дисертантом й дозволяють вважати, що отримані висновки мають як фундаментальну, так і практичну доцільність у сучасній біохімії.

Достовірність одержаних результатів обумовлюється підтвердженням статистичного аналізу у порівнянні з інтактними тваринами.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та програмного пакета Statistica 6 з використанням параметричних та непараметричних методів статистики.

Роботу з лабораторними тваринами (щурами) проводили відповідно до вимог положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та згідно з відповідними законами України. Біоетичною комісією НДІ біології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна порушень при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 23 березня 2017 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на біологічному факультеті Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна при розробці лабораторних робіт з дисциплін «Біохімія» та

«Біотехнологія» для студентів біологічного факультету, які навчаються за освітньо-професійною програмою «Біологія» на першому (бакалаврському) рівні освіти, а також при розробці програм нормативних дисциплін «Молекулярна біологія» та «Біотехнологія».

### **Оцінка дисертації щодо її змісту та оформлення.**

Схема побудови роботи традиційна, викладено такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень», «Обговорення результатів», «Висновки» та «Список використаних джерел» та 2 «Додатків». Дисертацію викладено на 146 сторінках, з них основного тексту 104 сторінки. Робота ілюстрована 5 таблицями та 23 рисунками. Список використаних джерел містить 211 найменування.

В огляді літератури автором детально проаналізовані можлива роль вільних радикалів у механізмах старіння, розробка експериментальної моделі в дослідженні вільнорадикальних процесів у механізмах вік-залежних адаптацій, роль гормезису в механізмах вік-залежної адаптації, сучасні підходи і проблеми у вивченні гормезису до токсичних сполук, прояв гормезису до іонів важких металів, калорійно обмежена дієта і уповільнення старіння, роль металотіонеїнів у механізмах стійкості до йонів важких металів та інших стрес-факторів. У цілому розділ написаний лаконічно з порівнянням різних експериментальних даних вітчизняних та світових лабораторій. Дисертант продемонстрував обізнаність за обраною тематикою.

У розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» наведені сучасні підходи проведення експериментальних досліджень. Необхідно відмітити, що автором застосовано експериментальне моделювання *in vivo*, а також методи біохімічні (визначення вмісту колагену, гідроперекисів ліпідів, активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, аконітатгідратази, глутаредоксину, вміст гаптоглобіну, церулоплазміну, пептидів середньої молекулярної маси, хроматографічні та електрофоретичні – для характеристики мідь-зв'язувальних білків, метод диференціального

центрифугування), мікроскопічні (для визначення фагоцитарної активності нейтрофілів), фізіологічні (маса тіла тварин, ректальна температура, працездатність), гістологічні (виготовлення гістологічних препаратів печінки щурів), статистична обробка даних з використанням параметричних та непараметричних методів статистики.

Результати та їх обговорення представлені у розділі 3 (4 підрозділи) власних експериментальних досліджень, які проведені на сучасному науково-методичному рівні.

На першому етапі дисертант презентував:

3.1. Дослідження залежності прояву гормезису до йонів міді від схеми попереднього введення малих доз цього токсину та роль мідь-зв'язуючих білків у цьому.

Зроблено висновок, що, багаторазові послідовні введення експериментальним тваринам сірчаноокислої міді в малих дозах (43 від летальних) забезпечили формування у таких тварин стійкості до подальшого введення летальних доз (3 мг/100 г). Ступінь такої адаптованої стійкості до сірчаноокислої міді має U-образний характер. Досягнення найвищого ефекту після 3-х послідовних уведень малих доз з інтервалом 48 годин між уведеннями – адаптований ефект стійкості (гормезис) зберігається (адаптується) як мінімум на протязі 45 діб після введення малих доз.

У формуванні гормезису важливу роль відіграють мідьзв'язуючі білки цитозоля печінки з молекулярною масою близько 12 кДа, які забезпечують внутрішньоклітинний характер розподілу йонів міді. Старі тварини не поступаються молодим по здатності проявляти Cu-індуковану стійкість до сірчаноокислої міді, якщо їм вводити токсикант розрахований на масу печінки. Більш того, МСБ тварин володіє великою зв'язувальною здатністю у порівнянні з молодими тваринами.

3.2. Біохімічні та імунологічні наслідки гормезису до сірчаноокислої міді.

Експериментально доведено, що ключовим метаболічним ланкою в розвитку гормезису і подальшого формування фіброзу печінки, є функціональна активність прооксидантно–антиоксидантної та імунної систем. Припускається, що «взаємодії» або патерн між численними елементами цих систем і визначає вибір стратегії формування адаптивної відповіді не тільки на іони міді, а й на інші ксенобіотики. Зі збільшенням віку також можуть формуватися свої патерни в цих системах, що і буде впливати на майбутні характеристики адаптивної відповіді. Або іншими словами, вік накладає «відбиток» на деякі з елементів прооксидантно-антиоксидантної та імунної систем.

3.3. Певні показники прооксидантно-антиоксидантної та імунної систем при циклічному режимі годування, як моделі збільшення тривалості життя.

Встановлено, що циклічний режим годування, який забезпечував збільшення тривалості життя тварин, супроводжується двократним збільшенням вмісту гідроперекисів ліпідів у мітохондріях. На тлі збільшення вмісту гідроперекисів ліпідів мало місце збільшення активності глутатіонпероксидази. Активність глутатіонпероксидази не зменшується, як в разі фіброзу печінки, а навпаки збільшується. Ці результати можуть вказувати на те що при фіброзі проявляється окислювальний стрес, а при ЦРК мало місце зміни регуляторних ефектів редокс-системи організму. Втрата і відновлення маси тіла експериментальний тварин при циклічному режимі годування приводила до прояву метаболічної пам'яті до режиму годування тварин.

#### 3.4. Обговорення результатів.

Наголошено, що вік-залежні відмінності можуть вказувати на те, що відповідь біологічної системи на екзогенні впливи залежить від попередньої метаболічної пам'яті, яка сформувалася в онтогенезі, а вона, в свою чергу, впливатиме на подальший вибір стратегій подальших адаптивних відповідей.

Виходячи з цього, вік-залежна відповідь на зовнішні впливи залежить не від віку, а від метаболічної і, ймовірно, епігенетичної пам'яті, яка «накопичилася».

Дисертаційна робота Мохаммад Алі Юсеф Аль Бегаї є завершеним дослідженням, результати апробовані, за матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць, серед яких 6 статей у зарубіжних наукових фахових виданнях, які цитуються в різних базах даних, і 2 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

### **Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.**

Проте можна висловити деякі зауваження та питання дискусійного характеру до дисертанта:

1. У завданнях не треба застосовувати не визначені поняття (деякі, певні), бо постійно встає питання саме які показники?
2. У дисертації не стандартизована презентація рисунків (різні розміри, різний шрифт, дуже багато помилок). Не на всіх рисунках визначена статистична значима різниця (не проставлені \*), рис. 3.3, рис. 3.4.
3. На рис. 3.5 не зрозумілий показник – відношення маси тіла до маси печінки й 5% максимальне значення? Явна помилка у назві показника.  
На рис. 3.11 – що таке відносна питома вага?, на графіку презентований вміст колагену чи оксипроліну?
4. Чи проводився кореляційний аналіз між отриманими дослідними даними (біохімічними, морфологічними, фізіологічним)?
5. Які сучасні загрози забруднення солями міді в Україні та світі?
6. Який механізм накопичення йонів міді саме у мітохондріях та цитозолі?
7. Які практичні рекомендації дисертант може зробити на базі отриманих результатів?
8. Для фахівців найцікавішим є розділ із аналізом та узагальненням результатів дослідження. Але, саме це представлено слабо.

## 9. Дуже багато помилок, як на графіках так і у тексті:

7

«Циклічний режим годування, який забезпечував збільшення тривалості життя тварин, супроводжується двократнім збільшенням змісту гідроперексидів лібідо в мітохондріях» стор 117.

Враховуючи, що дисертант іноземний громадянин, зрозуміла така маса помилок, але вважаю, що український текст дисертації треба ретельно відкоригувати.

### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Загалом дисертаційна робота справляє добре враження, актуальність, новизна, обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність не викликає сумнівів. Робота має теоретичне й практичне значення. Одержані нові дані про можливий механізм формування індукованої резистентності до токсичних концентрацій йонів міді у тварин різного віку. Показано, що в механізмах гормезису важливу роль відіграють мідь-зв'язуючі білки, які забезпечують внутрішньоклітинний характер розподілу йонів міді та формують специфічний патерн біохімічних показників, який здатний до імпринтингу. Отримані результати доповнюють існуючі уявлення про біохімічні механізми старіння. Дисертація є закінченим науковим дослідженням. Головний зміст дисертації віддзеркалений в авторефераті.

Враховуючи вище викладене, вважаю, що дисертація Мохаммад Алі Юсеф Аль Бегаї «Вік-залежні особливості прояву гормезису до йонів міді» відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України про «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння звання старшого наукового співробітника», що висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Зав. кафедри біохімії та фізіології  
Дніпровського національного  
університету імені Олеся Гончара,  
док-р. біол. наук (03.00.04-біохімія), проф.



Ушакова Г.О.