

ВІДГУК

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Воронич-Семченко Наталії Миколаївни на дисертаційну роботу
Ковальчук Ірини Миколаївни на тему: «Вплив донора сірководню на
функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та
варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин
за умов дії іонізуючого випромінювання», подану у спеціалізовану
вчену раду Д 35.600.03 у Львівському національному медичному
університеті імені Данила Галицького на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук за спеціальністю
14.03.03 – нормальна фізіологія**

1. Актуальність теми дисертації. Проблема реакції окремих органів та систем на іонізуюче випромінювання (з'ясування як ранніх, так і віддалених наслідків) залишається актуальною впродовж останніх десятиліть. Відомо, що навіть малі дози опромінення можуть зумовлювати функціональні зміни окремих органів та фізіологічних систем, у тому числі серця та печінки. У результаті променевого ураження в органах розвиваються зміни кровоносних судин та дистрофічні порушення. Реакції судинної ланки при радіаційних навантаженнях проявляються розширенням меж фізіологічної лабільності та напруженістю автономної регуляції. Зміни структурного й функціонального характеру не зникають і у віддалені періоди після променевого впливу.

Одним із пріоритетних напрямків сучасних досліджень є поглиблене вивчення ролі газотрансмітерів у збереженні гомеостазу. В останні роки увагу вчених привертає з'ясування ефектів сірководню (H_2S) у підтриманні системних функцій. H_2S в організмі синтезується із цистеїну за допомогою піридоксаль-5'-фосфатзалежних ферментів цистатіонін- β -синтази або

цистатіонін-γ-ліази. Відомо, що при патологічних процесах H_2S виявляє цитопротекторні властивості (запобігає розвитку глутамат-індукованого оксидативного стресу, стабілізує функцію мітохондрій, зменшує пошкодження клітин при експериментальній гіпоксії, травмі тощо), володіє антиоксидантними та антиагрегантними властивостями. Під його дією активуються АТФ-залежні калієві канали, що широко представлені в серцево-судинній, ендокринній, нервовій системах та шлунково-кишковому тракті. Увагу наукового керівника та автора роботи привернули зміни функціонально-метаболічного стану міокарда і печінки під впливом іонізуючого випромінювання та вплив на них донора H_2S .

Наукова робота Ковальчук Ірини Миколаївни, яка присвячена дослідженню функціонально-метаболічного статусу міокарда і печінки, варіабельності серцевого ритму (BCP) за впливу донора H_2S та його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання в експерименті, є надзвичайно актуальною, важливою, перспективною та має вагоме медико-соціальне й практичне значення. Результати роботи сприятимуть з'ясуванню механізмів впливу H_2S на розвиток пристосувальних функціонально-метаболічних процесів у міокарді та печінці за дії малих доз іонізуючого випромінювання. Отримані результати можуть бути використані як наукова основа для обґрунтування та розробки критеріїв оцінки міри шкідливого впливу іонізуючого випромінювання, а також якості пристосувальних реакцій, розширенню превентивних заходів та шляхів корекції функціонально-метаболічних особливостей серця та печінки за умов дії радіації.

2. Зв'язок роботи з державними чи галузевими науковими програмами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри нормальної фізіології ЛНМУ імені Данила Галицького

«Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних засобів корекції» (№ державної реєстрації 0111U000121, 2011-2015 рр.), «Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостазування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи» (№ державної реєстрації 0116U004510, 2016-2020 рр.). Здобувач була співвиконавцем даних наукових робіт.

Тема дисертації затверджена та уточнена на засіданнях Вченої ради медичного факультету №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України (відповідно 15 квітня 2015 р., протокол № 7 та 17 жовтня 2018 р., протокол № 2).

3. Достовірність і новизна наукових положень, висновків і практичних рекомендацій. Науковий інтерес представляють нові аспекти впливу донора H_2S - $NaHS$ та рентгенівського опромінення на регуляцію серцевої діяльності, модулювання жирнокислотного складу мембран міокарда, печінки і плазми крові, а також зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці. Автором доведено часозалежний вплив донора H_2S на параметри ВСР. Вперше встановлено, що попереднє до впливу радіації застосування донора H_2S призводить до підтримання вищого рівня активності регуляторних систем, включаючи трофо- і ерготропні процеси, ніж за дії лише іонізуючого випромінювання. Такі дані свідчать про покращення перебігу адаптаційних процесів у пострадіаційний період на тлі введення донора H_2S . Автором встановлено модулюючий ефект H_2S (за умов самотійної дії та попередньої до впливу радіації) на вміст ненасичених і насичених жирних кислот фосфоліпідів та загальних ліпідів у печінці, міокарді та плазмі крові. Отримано дані, які суттєво доповнюють існуючі уявлення про органну специфіку впливу

донора H_2S на активність ензимів, що беруть участь в енергозабезпеченні в печінці та міокарді.

На основі результатів досліджень розроблено інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я – Гжегоцький МР, Ковальчук ІМ. Оцінка ефективності дії гідроген сульфід у впливу радіації на основі показників жирнокислотного складу фосфоліпідів різних органів: № 189-2019 / ЛНМУ. Київ, 2019. Відповідна копія представлена у додатку роботи.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Робота має чітко виражений фундаментальний характер і обґрунтовану конкретну практичну спрямованість. Отримані результати дослідження мають важливе значення для фізіології (зокрема, серцево-судинної та травної систем), патофізіології, біохімії, оскільки характеризують вплив донора H_2S на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та ВСР експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання.

Результати досліджень сприятимуть з'ясуванню механізмів впливу H_2S на розвиток пристосувальних функціонально-метаболічних процесів у міокарді та печінці за дії малих доз іонізуючого випромінювання. Отримані автором дані можуть послужити основою для обґрунтування та розробки критеріїв оцінки міри пошкоджуючого впливу іонізуючого випромінювання, а також якості пристосувальних процесів, вибору засобів профілактики та корекції можливих розладів за умов впливу радіації.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес ряду вищих медичних навчальних закладів, зокрема, кафедр нормальної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Гобачевського, Івано-Франківського національного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Дніпропетровської медичної академії, що підтверджено чотирма актами впровадження, які розміщені у додатку.

5. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень і висновків, сформульованих у дисертації. У дисертації представлені фактичні дані та теоретичні узагальнення, які є власним науковим здобутком автора. Робота виконана з позиції доказової медицини. В основі наукової роботи Ковальчук І.М. лежать результати досліджень на 90-та білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г. Для досягнення мети проведено два комплекси досліджень. Першочергово здійснено серію експериментів, у якій у щурів у динаміці визначали параметри ВСР неінвазивно. Тварини були розділені на три дослідні групи. У першій дослідній групі показники ВСР вимірювали через 30 хв, 3, 24, 48 та 72 год після введення донора H_2S $NaHS$; у другій – через 24, 48 та 72 год після тотального однофракційного опромінення; у третій – через 24 год після опромінення щурів, яким за 30 хв до цього вводили розчин $NaHS$. Контрольній групі щурів вводили 0,9 % розчин $NaCl$ в аналогічних до дослідних тварин режимах з розрахунку 0,1 мл/100 г маси. Наступним комплексом досліджень було визначення показників жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів, активності ензимів енергетичного обміну у міокарді, печінці та плазмі крові. У першій дослідній групі цього комплексу досліджень визначали показники жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів, активність ензимів енергетичного обміну через 30 хв після введення донора H_2S ; у другій – ці ж показники досліджували через 24 год після введення $NaHS$; у третій – через 24 год після опромінення; у четвертій – через 24 год після опромінення на тлі введення донора H_2S . Тварин виводили з експерименту під загальною анестезією шляхом швидкої декапітації.

Упродовж дослідження щурів утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Дослідження проведено відповідно до положень та дозволу комітету з біоетики Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького (протокол № 1 від 20.01.2015 р.). Дослідження не суперечать Директивам Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986) та Міжнародним принципам «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для експериментів і в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), здійснені з дотриманням загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах, ухвалених Інтернаціональним конгресом з біоетики (Київ, 2000), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним Конгресом України з біоетики (2001).

Усі цифрові дані піддавались ретельному статистичному аналізу з використанням програми Microsoft Excel 2011 версії 14.4.0 (140226). Різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично достовірною при $p < 0,05$. Для дослідження взаємозв'язку поміж досліджуваними показниками було проведено розрахунок парних коефіцієнтів кореляції за методом Пірсона. Прилади, що були використані в ході експериментальних досліджень, підлягали систематичному метрологічному контролю.

Дослідження проведені на високому науковому та методичному рівнях. Вибрані автором методики різнопланові, сучасні, дозволяють досягнути мети дослідження. Багатоплановість та сучасність методичних підходів, застосованих автором для досягнення мети, гарантує абсолютну доброякісність отриманої наукової інформації. Достовірність результатів та висновків роботи забезпечена репрезентативністю дослідних груп, аргументованістю вибору об'єкта та предметів дослідження, статистичним аналізом цифрових даних, їх чітким літературним обґрунтуванням. У цілому зазначене забезпечило високу інформативність, достовірність і новизну отриманих даних, висновків, що відповідають меті та завданням

дослідження. У роботі не були використані ідеї та розробки, які належать співавторам опублікованих робіт.

6. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. Наукові положення дисертації повною мірою викладені в опублікованих дисертантом 18-ти наукових працях, із яких сім статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (у тому шість включено до міжнародних наукометричних баз, одна стаття – в іноземному виданні). Автором оформлено один інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Матеріали дисертації не однократно були оприлюднені на наукових форумах рівного рівня (у тому числі міжнародних).

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації. Дисертація викладена на 198 сторінках (з них 143 сторінки основного тексту), оформлена згідно з існуючими вимогами. Структура її традиційна. Дисертація містить анотацію, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, чотирьох додатків. Здобуті автором результати повністю відображено у таблицях та рисунках із зазначенням результатів статистичного опрацювання. Список літератури містить 339 найменувань (у тому числі 75% латиницею, 25% кирилицею), оформлений відповідно до існуючих вимог. Значна частина посилань опублікована впродовж останніх п'яти років.

У роботі міститься анотація, у якій представлено короткий зміст роботи (українською та англійською мовами), список друкованих праць.

У «Вступі» на високому рівні обґрунтована актуальність та доцільність проведення дослідження, зв'язок з науковими програмами та темами, сформульована мета й завдання, окреслена наукова новизна та практична цінність отриманих результатів, особистий внесок здобувача,

наведені дані про апробацію результатів дисертації та публікації. Вступ займає 7 сторінок.

У розділі 1 (огляд літератури) кваліфіковано представлено нові дані літератури, які відображають фізіологічні ефекти та механізми дії H_2S . Зокрема, автор детально характеризує особливості метаболізму та ефекти впливу H_2S на різні тканини організму, роль газотрансмітера у регуляції фізіологічних процесів та запальних реакцій. Автор висвітлює роль жирнокислотного складу фосфоліпідів у визначенні функціонально-метаболічного стану клітинних і субклітинних мембран. У розділі детально представлено літературні дані щодо впливу малих доз іонізуючого випромінювання на мембранозалежні механізми регуляторних систем, зокрема, ефекти впливу радіації на енергозалежні процеси та регуляторні механізми різних рівнів в організмі. Автором визначено завдання, що є актуальними, залишаються невиясненими і потребують подальшого вивчення. Розділ викладений на 23 сторінках, складається із трьох підрозділів, ілюстрований одним рисунком.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» складається з шести підрозділів, у яких детально описані об'єкти та умови дослідження, використані у роботі фізіологічні, біохімічні та біофізичні методи (аналіз ВСР, визначення активності ензимів енергетичного обміну, жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові експериментальних тварин), статистичні методи опрацювання результатів досліджень. У зазначеному розділі автор вказує, що комплексні дослідження виконанні на базі кафедри нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького у співпраці з іншими кафедрами та науково-дослідними установами, зокрема, КНП ЛОР ЛОРЛДЦ, Інститутом біології тварин НААН України та Інститутом сільського господарства Карпатського регіону НААН України. Розділ структурований на шість підрозділів, викладений на 18 сторінках, ілюстрований двома рисунками.

Результати власних досліджень описано у трьох розділах.

У розділі 3 представлено результати аналізу активності регуляторних систем організму (на основі даних показників ВСР) за умов впливу донора H_2S та його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання. Автор детально аналізує динаміку зміни параметрів ВСР щурів після впливу NaHS , за дії іонізуючого випромінювання та впливу попереднього до дії радіації застосування донора H_2S .

Автором встановлено, що через 30 хв після введення NaHS спостерігається істотне збільшення загальної потужності спектру, яке характеризує зростання абсолютного рівня активності регуляторних систем. Отримані результати зазначеного фрагменту досліджень свідчать про посилення автономного контуру регулювання серцевої діяльності та зниження частки симпатичних впливів на серце. На третю годину з часу введення донора H_2S встановлено, що рівень спектральних та статистичних показників ВСР відновлюється практично до вихідних даних. Через 24 год після введення донора H_2S зафіксовано повторне зростання активності парасимпатичної ланки АНС, хоча ці зміни були менш виражені, ніж у ранній термін, а на 48 год встановлено нормалізацію статистичних та спектральних показників ВСР. Через 24 год після дії іонізуючого випромінювання відмічено пригнічення активності всіх ланок регуляторних систем, у тому числі парасимпатичного відділу АНС. Найбільш суттєве зниження активності регуляторних процесів та пригнічення автономного контуру регулювання серцевої діяльності було зафіксовано на 48 год пострадіаційного періоду, а через 72 год дослідження зафіксовано поступове зростання спектральних та статистичних показників. Попереднє до дії радіації введення донора H_2S зумовлює виражене покращення перебігу адаптаційних процесів, що полягає в активації різних ланок регуляторних систем з переважаючою мобілізацією парасимпатичної нервової системи та помірною активацією ерготропних процесів, а також зменшує напруження регуляторних систем,

зумовлене впливом радіації. Аналізуючи отримані результати, автор представляє силу і напрям кореляційних взаємозв'язків між досліджуваними показниками.

Розділ структурований на три підрозділи, викладений на 18 сторінках, містить 3 таблиці та ілюстрований 10 рисунками.

У розділі 4 представлено дані, що характеризують зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за умов впливу донора H_2S та його застосування за умов дії іонізуючого випромінювання.

Автор ретельно аналізує зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за дії донора H_2S , їх модифікацію на тлі попереднього до дії радіації застосування донора газотрансмітера. У результаті дослідження встановлено, що введення донора H_2S супроводжується зменшенням рівня насичених жирних кислот фосфоліпідів, яке найбільш виражене у печінці та плазмі крові. Попереднє до дії радіації введення донора H_2S зумовлює зниження рівня насичених жирних кислот щодо впливу іонізуючого випромінювання та зростання співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот щодо дії радіації. Зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів мали аналогічну спрямованість до змін композиції жирнокислотного складу фосфоліпідів у міокарді, печінці та плазмі крові. Така динаміка свідчать про вплив H_2S на структурованість, плинність біомембран, а також на мембранозалежні процеси, що можна розцінювати як модулювальний ефект газотрансмітера за дії радіації.

Розділ структурований на чотири підрозділи, викладений на 33 сторінках, містить 20 таблиць, ілюстрований 7 рисунками.

У розділі 5 представлена характеристика зміни активності ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці експериментальних тварин за дії NaHS та його впливу попередньо до дії радіації. Встановлено

особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення специфічних функцій у печінці та міокарді за умов активації H_2S -залежних паракринних механізмів та дії радіації на цьому фоні. За умов впливу донора H_2S в міокарді відмічено значну активацію аспартатамінотрансферази, зростання активності якої підтримується і за дії радіації на фоні введення NaHS . У печінці під впливом донора H_2S , а також дії радіації на тлі попереднього введення NaHS відмічено активацію ФАД-залежного енергоутворення, про що свідчить підвищення активності сукцинатдегідрогенази спряжене з менш вираженим збільшенням активності цитохромоксидази.

Розділ структурований на два підрозділи, викладений на 14 сторінках, містить дві таблиці та ілюстрований 9 рисунками.

Автор після кожного розділу наводить детальні висновки представлених фрагментів досліджень, а також перелік наукових праць, де опубліковані та апробовані результати власних досліджень.

У розділі 6 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» результати наукових досліджень логічно співставляються із даними літератури. У цьому контексті виокремлюється новизна отриманих автором фактів, які переконливі та містять практичну цінність. Здобувач піднімає дискусійні питання та адекватно їх обґрунтовує чи спростовує. Необхідно зазначити, що даний розділ написаний чітко, представлений у вигляді наукової дискусії з високим рівнем науково-інформаційного супроводу. Автор дисертації використовує достатню кількість зарубіжних та вітчизняних джерел наукової літератури, які вміло та відповідно застосовані дисертантом для порівняльного аналізу. Розділ викладений на 13 сторінках.

Висновки роботи (кількістю шість) обґрунтовані, логічні, конкретні, базуються на результатах власних даних автора та повністю відповідають завданням дослідження, які були поставлені перед здобувачем.

Дисертація містить чотири додатки, у яких представлені інформаційний лист, акти впроваджень, відомості про апробацію результатів та наукові праці, що опубліковані за темою роботи.

Зміст автореферату повною мірою відображає структуру та відповідає основним положенням дисертації.

8. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації. Дисертація оформлена відповідно до чинних вимог. Принципових недоліків щодо структури, змісту, оформлення, обсягу, науково-теоретичного та практичного значення, висновків у представленій дисертаційній роботі не виявлено. У роботі ретельно продуманий дизайн, дисертація гарно підготовлена, старанно вичитана, інформативно проілюстрована, не обтяжена цифровим матеріалом при аналізі статистичних даних (автор наводить вагомі дані, що відображають динаміку змін досліджуваних показників).

При аналізі дисертаційної роботи виникли питання, які потребують уточнення і на які хотілося б почути відповідь дисертанта:

1) Як Ви можете пояснити зміни жирнокислотного складу загальних ліпідів досліджуваних тканин під впливом донора сірководню?

2) Якими критеріями Ви користувались, обираючи терміни реєстрації динаміки варіабельності серцевого ритму у тварин 1-ї, 2-ї та 3-ї дослідних груп першого комплексу досліджень?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам. Проведений аналіз дисертаційного дослідження Ковальчук Ірини Миколаївни на тему: «Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання», виконаного під керівництвом член-кореспондента НАМН України, заслуженого діяча науки і техніки України, доктора медичних наук, професора Гжегоцького Мечислава Романовича, яка подана до офіційного

захисту у спеціалізовну вчену раду Д 35.600.03 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія свідчить, що у даній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення актуальної в галузі фізіології наукової задачі встановлення механізмів впливу донора сірководню на параметри варіабельності серцевого ритму, композицію жирнокислотного складу фосфоліпідів, активність ензимів енергетичного обміну серця та печінки експериментальних тварин, обґрунтування доцільності попереднього застосування NaHS за умов впливу іонізуючого випромінювання. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею, що виконана на високому науковому рівні. Наукові положення та висновки, що представлені в роботі, є новими, результати досліджень у повному обсязі представлені у наукових працях та впроваджені у науково-дослідну роботу і навчальний процес закладів вищої освіти. За актуальністю обраної теми, обсягом та науково-методичним рівнем досліджень, науковою новизною, теоретичною та практичною цінністю результатів, об'єктивністю та обґрунтованістю висновків дисертація Ковальчук Ірини Миколаївни на тему: «Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання» є закінченою кваліфікаційною науковою роботою, що відповідає вимогам п. 11 Постанови Кабінету Міністрів України «Порядок присудження наукових ступенів» від 24.07.2013 р. №567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. і №1159 від 30.12.2015 р.), Наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а дисертант заслуговує на

присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 - нормальна фізіологія.

Офіційний опонент,

завідувач кафедри фізіології

Івано-Франківського національного

медичного університету,

д.мед.н., проф.



Н.М. Воронич-Семченко

