

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

КОВАЛЬЧУК ІРИНИ МИКОЛАЇВНИ

«Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання»,
що подана до спеціалізованої вченої ради Д 35.600.03 при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького для здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія.

АКТУАЛЬНІСТЬ ОБРАНОЇ ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

В основі дисертаційного дослідження Ковальчук Ірини Миколаївни «Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання», що подане на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія, перебуває широке коло важливих питань, спрямованих на дослідження ряду проблем, серед яких з'ясування можливості паракринної дії гідроген сульфїду на фізіологічні процеси та мембранозалежні функції в окремих органах за умов введення донора сірководню, а також дослідження можливості коригувального та модулювального ефектів за умов його попереднього застосування до дії радіації.

Дисертаційна робота є оригінальним дослідженням, що присвячене важливій сучасній науковій проблемі – особливостям регуляторного впливу газового медіатора сірководню (H_2S) на структурно-функціональний стан клітинних мембран, процеси енергосинтезу та регуляторні механізми систем різних рівнів за умов застосування донора сірководню попередньо до дії малих доз радіації.

Слід вказати, що обрано достатньо складний об'єкт дослідження – роль сірководню у забезпеченні регуляції роботи серця, мембранозалежних процесів та змін активності ензимів різних ланок метаболізму органів за умов його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання. Оскільки за дії радіації активуються процеси перекисного окислення ліпідів, порушення балансу між про- та антиоксидантами призводить до пошкодження ліпідного, білкового компонентів в складі клітинних мембран. Встановлені антиоксидантні властивості сірководню ґрунтуються на його здатності пригнічувати утворення активних форм кисню та збільшувати активність ендogenous антиоксидантних ферментів. Зазначені ефекти як самостійного впливу донора гідроген сульфід (NaHS), так і його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання визначають діапазон адаптаційно-компенсаторних реакцій організму до дії екстремальних чинників у аспекті зміни мембранопов'язаних функцій, активності ензимів різних ланок метаболізму органів з різною радіорезистентністю, а також активності регуляторних систем різних ланок. На сьогодні продовжують вивчатися складні паракринні регуляторні впливи гідроген сульфід шляхом модифікації структурно-функціонального стану мембран.

Крім того, важливою складовою життя людини є вплив різних факторів навколишнього середовища, зокрема, іонізуючого опромінення. Необхідність глибокого та всебічного дослідження ефектів дії іонізуючого випромінювання на організм пов'язана з проблемами екологічної фізіології: глобальне підвищення радіаційного фону планети, зумовлене широкомасштабним застосуванням радіаційних технологій, випробуванням ядерної зброї, аваріями на ядерних установках, зокрема, на ЧАЕС. Ця техногенна катастрофа зумовила додаткове опромінення багатомільйонного населення низки країн Європи та глобальне радіонуклідне забруднення довкілля. Слід також відмітити, що донори сірководню завдяки своїм

властивостям входять до складу найчисельнішої групи мієлопротекторів – засобів захисту кісткового мозку та інших гемопоетичних тканин при опромінюванні у «кістково-мозковому» діапазоні доз 1–10 Гр, короткочасність протекторної дії становить 3–4 год. За фізіологічних концентрацій спектр біологічної дії сірководню сягає участі у регуляції роботи серцево-судинної системи, у тому числі, здатності до стимуляції ангіогенезу, реалізації антиоксидантних, протизапальних, цитопротекторних властивостей. Ці ефекти реалізуються насамперед завдяки участі у цих процесах вивільненого ними сірководню, який як універсальний посередник, відіграє також важливу роль у регуляції роботи шлунково-кишкового тракту; нервової, імунної, сенсорної систем організму; у реакціях внутрішньоклітинного метаболізму та здійсненні контролю над основними клітинними процесами. З урахуванням комплексу функціональних особливостей останніми роками донори сірководню широко використовуються у дослідженнях, присвячених пошуку радіопротекторів з широким терапевтичним індексом та низькою токсичністю. Тому, актуальним питанням є дослідження активності регуляторних систем різних рівнів, жирнокислотний склад біологічних мембран різних органів, метаболічних клітинних процесів за впливу гідроген сульфідів та його попереднього застосування до дії пошкоджувального фактора – іонізуючого випромінювання. Пояснити це можна складністю постановки самих досліджень, багатогранністю ефектів, спричинених біодоступністю та фізіологічними ефектами сірководню у різних органах. Вкрай важливим у рецензованій роботі є спроба вирішити актуальне наукове завдання в галузі фізіології щодо встановлення ефектів впливу сірководню на параметри варіабельності серцевого ритму, зміни жирнокислотного складу та активність ензимів енергетичного обміну окремих органів, а також встановлення позитивних ефектів попереднього до дії радіації застосування донора сірководню.

Значення отриманих даних у аспекті вирішуваних наукових питань і практичного застосування результатів дозволяє зробити висновок про актуальність рецензованої роботи.

ЗВ'ЯЗОК ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ З ДЕРЖАВНИМИ ЧИ ГАЛУЗЕВИМИ НАУКОВИМИ ПРОГРАМАМИ

Дисертаційна робота зареєстрована як ініціативна наукова тема, є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри нормальної фізіології, що виконується у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького ЛНМУ «Дослідження функціонально-метаболических резервів стрес-лімітуючих систем організму за екстремальних умов з метою виявлення ефективних засобів корекції» (№ державної реєстрації: 0111U000121, 2011–2015), «Дослідження ролі системних та паракринних регуляторних механізмів у забезпеченні гомеостатування функціонально-метаболических параметрів організму за умов адаптації до дії екстремальних чинників різної природи» (№ державної реєстрації: 0116U004510, 2016–2020).

СТУПІНЬ ОБҐРУНТОВАНOSTІ ПОЛОЖЕНЬ, ВИСНОВКІВ ТА РЕКОМЕНДАЦІЙ, СФОРМУЛЬОВАНИХ У ДИСЕРТАЦІЇ, ЇХ ДОСТОВІРНІСТЬ І НОВИЗНА, ПОВНОТА ВИКЛАДЕННЯ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ

Дисертаційна робота побудована методично правильно і відповідає сучасному науковому рівню. Представлені у дисертації аргументовані положення, ґрунтуються на аналізі літературних джерел і матеріалів власних досліджень. Методичні підходи відповідають поставленим завданням і вимогам для досягнення наукових даних. Матеріал добре репрезентований на великому об'ємі одержаних даних. Коректна статистична обробка автором цифрового матеріалу результатів досліджень дала можливість дійти до

формулювання обґрунтованих і достовірних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дослідження буди присвячені вивченню ролі гідроген сульфід, одного з ключових газових медіаторів, та рентгенівського опромінення на механізми регуляції серцевої діяльності, жирнокислотний склад плазматичних мембран печінки та міокарда, визначенню зміни активності ензимів та їх роль у енергетичних процесах кардіоміоцитів та гепатоцитів.

Гідроген сульфід, що синтезується локально, за паракринним механізмом дії бере участь у регуляції багатьох процесів та метаболічних реакцій у клітинах, здійснює вплив на стан нервової, серцево-судинної, травної, імунної, ендокринної, видільної, статевої, тощо, є одним з чинників антиоксидантної системи, однак за умов зростання його продукції виникає токсичний ефект. У результаті проведених досліджень отримані нові цікаві факти щодо ефектів впливу донора гідроген сульфід в міокарді та печінці.

Виконані автором дослідження дозволили отримати достатню кількість принципово нових фактів, важливих для розвитку наукових аспектів про регуляторну роль H_2S у регуляції серцевої діяльності на основі аналізу варіабельності серцевого ритму, клітинно-молекулярних механізмів модулювання жирнокислотного складу мембран міокарда, печінки і плазми крові, активність процесів енергосинтезу на основі визначення активності ензимів енергетичного обміну в печінці та міокарді. Встановлено зміни мембрано- та енергозалежних процесів як за умов самостійного впливу донора гідроген сульфід, так і за його попереднього застосування до дії радіації.

Вперше було відмічено, що попереднє застосування донора H_2S до дії іонізуючого випромінювання супроводжувалося підтриманням вищого рівня активності регуляторних систем, порівняно до самостійної дії радіації, що засвідчує активацію та позитивну перебудову адаптаційно-компенсаторних процесів за умов попереднього до дії радіації введення $NaHS$. Дисертант

довела часозалежний вплив донора гідроген сульфїду на параметри варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин. Також було зафіксовано зростання активності всіх ланок регуляторних систем та встановлено переважання парасимпатичної ланки автономної нервової системи у різні терміни введення NaHS (через 30 хв та через 24 год).

Вперше показано модулювальний ефект гідроген сульфїду на композицію жирнокислотного складу фосфолїпїдів та загальних лїпїдів у печінці, міокарді та плазмі крові за умов самостійного впливу та його застосування попередньо до дії іонізуючого випромінювання. Дослідженнями було встановлено, що за впливу донора гідроген сульфїду NaHS в цих органах зафіксовано зростання вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот та зменшення вмісту ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфолїпїдів та загальних лїпїдів, відповідно, відмічено зростання співвідношення ω -3/ ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфолїпїдів та загальних лїпїдів міокарда, печінки та плазми крові.

Вперше виявлено особливості органної специфіки впливу H_2S у печінці та міокарді на активність ензимів енергетичного обміну. Було зазначено, що введення гідроген сульфїду до дії іонізуючого випромінювання супроводжується зростанням у міокарді активності малат/аспартатного човникового механізму, про що свідчить зростання активності ензимів аспартатамінотрансферази та малатдегідрогенази. За аналогічних умов у печінці встановлено активацію ФАД-залежного енергоутворення, зумовлене зростанням активності сукцинатдегідрогенази з одночасним вираженим збільшенням активності цитохромоксидази.

Розглядаючи особистий внесок здобувача, необхідно підкреслити, що автором особисто проведений пошук та аналіз сучасної наукової літератури згідно теми дисертаційної роботи, обрані методики досліджень, зібрані, систематизовані і опрацьовані із використанням сучасних методів

статистичного аналізу отримані результати, проведена комплексна оцінка змін енергозалежних процесів у міокарді та печінці.

Дисертаційна робота Ковальчук І.М. є завершеним дослідженням, оформлена згідно існуючих положень «Основних вимог до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України. Вона складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, методів досліджень, двох розділів власних результатів досліджень, розділу присвяченому аналізу і узагальненню результатів, висновків, списку літератури, який складається із 339 найменувань та чотирьох додатків. Дисертація містить: 25 рисунків, 25 таблиць, 9 графіків. Статистичний аналіз проведений відповідним чином. Висновки сформульовані на результатах роботи дисертанта і відповідають завданням. Результати роботи нашли відображення у 19 друкованих роботах, з них 7 статей: 6 – у вітчизняних журналах, включених до міжнародних наукометричних баз, 1 – у закордонному журналі, 11 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях, де було викладено і обговорено основні положення, результати дослідження та висновки. Матеріали дисертації додатково відображені в інформаційному листі. В опублікованих працях, які відображають основний зміст дисертації, містяться матеріали власних досліджень здобувача.

Основні положення дисертаційної роботи протягом 2015-2019 рр доповідалися та пройшли апробацію на міжнародних та національних наукових форумах.

ТЕОРЕТИЧНЕ І ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Одержані результати автора мають не лише теоретичну новизну, а й свідчать про органічне поєднання з науково-практичним значенням і перспективою їх подальшого використання в теоретичній та практичній медицині.

Теоретичне значення дисертаційної роботи пов'язане із суттєвим розширенням існуючих нині уявлень про особливості впливу гідроген сульфїду на функціонально-метаболичні та регуляторні механізми різних рівнів як за умов його самостійного застосування, так і попереднього введення до дії іонізуючого випромінювання в малих дозах.

Результати дослідження допомогли теоретично та методологічно обґрунтувати спосіб застосування донора гідроген сульфїду попередньо до дії іонізуючого випромінювання. Встановлені фундаментальні закономірності регуляторної ролі H_2S що може сприяти з'ясуванню механізмів впливу донора сірководню на розвиток адаптаційних механізмів функціонально-метаболичних процесів у міокарді та печінці за дії іонізуючого випромінювання. В подальшому результати цих досліджень можуть бути використані як наукова основа для обґрунтування та розробки критеріїв оцінки ступеня негативного впливу іонізуючого випромінювання, вибору засобів профілактики та корекції за умов дії радіації, що має значний внесок у знання сучасної фізіології та медицини загалом.

В результаті аналізу основних положень дисертації, критеріїв оцінки важливо відмітити, що дана наукова робота характеризується широтою наукових поглядів, науково-практичних результатів та має завершений і сучасний характер.

Необхідно відзначити, що основні наукові положення роботи впроваджені в навчальному процесі кафедр фізіології в Івано-Франківському національному медичному університеті, Дніпропетровській медичній академії, Буковинському державному медичному університеті, Тернопільському державному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського.

ОЦІНКА ЗМІСТУ ДИСЕРТАЦІЇ, ЇЇ ЗАВЕРШЕНОСТІ В ЦІЛОМУ ТА ІДЕНТИЧНОСТІ ЗМІСТУ АВТОРЕФЕРАТУ Й ОСНОВНИХ ПОЛОЖЕНЬ ДИСЕРТАЦІЇ

Структура та оформлення дисертації Ковальчук Ірини Миколаївни та її автореферату відповідають «Основним вимогам до дисертацій та авторефератів дисертацій» ДАК України. Роботу викладено українською мовою на 198 сторінках друкованого тексту, з яких 128 сторінок – основний текст. Зміст, методичні засади виконаних досліджень і результати роботи відповідають спеціальності 14.03.03 – нормальна фізіологія. Структура дисертації виразна і зрозуміла. Доданий ілюстративний матеріал у формі рисунків та таблиць за суттю і тлумаченнями допомагає розумінню змісту представленого матеріалу.

У анотації роботи подано найважливіші результати дослідження та підкреслено їхню новизну. У вступі, який викладено на 6 сторінках і містить всі складові, рекомендовані ДАК України, а саме: обґрунтування актуальності проблеми дисертації; зазначення зв'язку роботи з науковими темами; формулювання мети та завдань дослідження; визначення об'єкту, предмету і перелік використаних методів дослідження зі стислою конкретизацією необхідності їх застосування; відображення наукової новизни отриманих результатів та їх практичного значення; зазначення особистого внеску здобувача; перелік наукових форумів, де були апробовані основні положення роботи; надання відомостей щодо публікацій дисертанта за матеріалами дисертації, автор поряд з описом сучасного стану і актуальності вирішуваних питань чітко окреслює мету та шість завдань своєї роботи.

Розділ «*Огляд літератури*» складається з трьох підрозділів і свідчить про те, що Ковальчук І.М. опрацювала великий масив важливої сучасної доступної наукової літератури, яка стосується предмету дисертації і багатofакторного аналізу ефектів впливу сірководню на фізіологічні процеси

в організмі, розвитку радіаційних порушень та перебігу адаптаційно-компенсаторних змін різних термінів пострадіаційного періоду. Завершує огляд літератури короткий підсумок, який переконує нас в необхідності подальших досліджень з питання впливу H_2S на процеси мембранозалежних функцій, регуляторні механізми різних рівнів та процеси енергозабезпечення за дії іонізуючого випромінювання.

В розділі «*Матеріали і методи дослідження*» дисертант подає детальний опис етапів, серій та методик дослідження із ретельною характеристикою досліджуваних показників. Робота ґрунтується на результатах експериментів, а саме на дослідженні ефектів впливу донора гідроген сульфідів за його самотійного введення, з'ясуванні змін досліджуваних показників за дії іонізуючого випромінювання та попередньому до дії радіації. Дослідження варіабельності серцевого ритму експериментальних тварин та їх опромінення виконувалося на базі Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Визначення жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові виконувалося на базі Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААНУ. Визначення активності ензимів енергетичного обміну проводилося в Інституті біології тварин НААНУ.

Розділ 3 «*Оцінка активності регуляторних систем організму на основі аналізу варіабельності серцевого ритму за умов впливу донора гідроген сульфідів $NaHS$ та його попереднього застосування до дії іонізуючого випромінювання*», який викладено на 11 сторінках і складається з трьох підрозділів, в яких описані результати вирішальної ролі H_2S в змінах активності центру регулювання серцево-судинної діяльності та модулюванні впливу симпатичного відділу автономної нервової системи на роботу серця. Позитивний ефект впливу донора гідроген сульфідів пов'язаний з посиленням адаптаційно-трофічної ролі вагусних впливів на серце. Результатами досліджень показано, що ефект попереднього до дії радіації введення донора

гідроген сульфід у виявляється в зменшенні напруження регуляторних процесів, збільшенні потужності відновних процесів, помірній активації ерготропних реакцій через 24 год порівняно з впливом самої лише радіації. Такі зміни свідчать про підвищення стійкості організму до дії іонізуючого випромінювання за умов попереднього до дії радіації введення донора сірководню.

У описі результатів дослідження, що в розділі 4 *«Зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів та загальних ліпідів міокарда, печінки та плазми крові за умов впливу донора гідроген сульфід у його застосування за дії іонізуючого випромінювання»*, який викладено на 33 сторінках і складається з чотирьох підрозділів, автором представлено результати впливу донора гідроген сульфід дозою 7,4 мг/кг у дослідних щурів, які виражалися зменшенням рівня насичених жирних кислот фосфоліпідів міокарда, печінки та плазми крові. Відмічено, що у міокарді, печінці та плазмі крові спостерігалось зростання вмісту ω -3 ПНЖК та тенденцію до зниження загального рівня ω -6 ПНЖК, встановлено достовірне збільшення співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК. Описана дія іонізуючого випромінювання через 24 год, що супроводжувалася суттєвим збільшенням рівня насичених жирних кислот фосфоліпідів у всіх досліджуваних біосередовищах та зменшення рівня ω -3 ПНЖК у досліджуваних органах та плазмі крові. Встановлено, що попереднє до дії радіації введення донора сірководню зумовлює зниження рівня насичених жирних кислот щодо впливу іонізуючого випромінювання та зростання співвідношення ω -3/ ω -6 ПНЖК щодо дії радіації, проте ці показники не досягають значень контролю. Такі зміни свідчать про вплив гідроген сульфід на жирнокислотний склад фосфоліпідів та зміни мембранозалежних процесів.

У наступному розділі 5 *«Оцінка попереднього до дії радіації впливу гідроген сульфід на активність ензимів енергетичного обміну в міокарді та печінці»* Ковальчук І.М. відмітила динаміку змін активності досліджуваних

ензимів у печінці та міокарді, що свідчить про особливості включення метаболічних шляхів енергозабезпечення за умов активації H_2S -залежних паракринних механізмів та дії радіації на цьому фоні. Автором відмічено тканинну специфіку змін активності ензимів енергетичного обміну за умов попереднього до дії радіації введення донора гідроген сульфід, що свідчить про забезпечення адекватної мобілізації органоспецифічних шляхів енергетичного забезпечення адаптивно-пристосувальних процесів.

У розділі 6 *«Аналіз та узагальнення результатів дослідження»* дисертант підсумовує результати проведених досліджень, порівнює їх з даними інших дослідників, підкреслює нові дані одержані під час виконання дисертаційної роботи. Автор також логічно обґрунтовує фізіологічні паракринні механізми дії гідроген сульфід, висловлюється припущення, що вони можуть інтегруватися у вищі рівні регуляторних систем, сприяючи оптимізації перебігу пристосувально-компенсаторних процесів цілісного організму.

Обговорення результатів дослідження дозволило авторові зробити аргументовані висновки, які сформульовані достатньо чітко, переконливо і відповідають меті та завданням дисертаційної роботи. Представлені автором шість висновків відображають основні результати роботи.

ЗАУВАЖЕННЯ ЩОДО ОФОРМЛЕННЯ ТА ЗМІСТУ ДИСЕРТАЦІЇ ТА АВТОРЕФЕРАТУ

Принципових недоліків і зауважень у змісті та оформленні дисертації та автореферату немає. При їхньому розгляді виникла необхідність звернути увагу на деякі зауваження, які не впливають на загальну позитивну оцінку роботи та не зменшують її наукової цінності:

1. При огляді літератури про фізіологічне значення сірководню забагато матеріалів, які мають дотичне значення. також варто більше використовувати роботи вітчизняних авторів.

2. В авторефераті відсутня характеристика використаних тварин— чисельність, вага, стать, вік. Останнє (вік) може впливати на синтез власного сірководню і його рівні в тканинах тварин, що може змінювати реакцію на введення його донору.
3. Чому вплив сірководню та опромінення оцінювали саме через 24 години?
4. Автором встановлено підвищення вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот та зменшення ω -6 поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів за впливу донора гідроген сульфід у міокарді, печінці та плазмі крові. Які саме поліненасичені кислоти змінювалися найбільшою мірою і, на думку автора, чому?
5. Відомо, що сірководень має здатність швидко метаболізуватися в тканинах. Вами зафіксовано зміни показників варіабельності серцевого ритму щурів впродовж трьох днів після введення NaHS . Як це можна пояснити?

Зроблені зауваження та запитання не носять принципового характеру і не впливають на загальну високу оцінку рецензованої роботи .

ВИСНОВОК ПРО ВІДПОВІДНІСТЬ ДИСЕРТАЦІЇ ВСТАНОВЛЕНИМ ВИМОГАМ

Дисертаційна робота Ковальчук Ірини Миколаївни «Вплив донора сірководню на функціонально-метаболічний стан міокарда і печінки та варіабельність серцевого ритму експериментальних тварин за умов дії іонізуючого випромінювання», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за своєю актуальністю, об'ємом і значимістю отриманих результатів є самостійним, оригінальним, завершеним науковим дослідженням, яке за науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю одержаних результатів має вагоме значення для сучасної

фізіології. Зважаючи на актуальність і перспективність тематики дисертаційної роботи, наукову новизну отриманих автором результатів, зв'язок з науковими темами і широке висвітлення результатів у вітчизняній та світовій науковій літературі, обговорення на численних міжнародних форумах вважаю, що дисертація відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (зі змінами, внесеними в Постановках КМ № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 та № 567 від 27.07.2016), щодо кандидатських дисертацій, а її автор Ковальчук Ірина Миколаївна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю – 14.03.03 – нормальна фізіологія.

Офіційний опонент

член-кор. НАН України,

доктор медичних наук, професор,

завідувач відділу фізіології кровообігу

Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

НАН України



В.Ф. Сагач

Підпис проф. Сагача В.Ф. засвідчую

Вчений секретар

Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця

НАН України




В.І. Портнічеико