

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу

Завгороднього Миколи Олеговича

на тему «**Перебудова зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму у щурів при гіпоксії та інсулінорезистентності**», представлену на здобуття

доктора філософії у галузі «09 Біологія» за спеціальністю «091 Біологія»

на спеціалізовану вчену раду ID 4664 Інституту фізіології ім. О.О.

Богомольця Національної академії наук України

Актуальність теми дисертації. На сьогодні вивчення причин виникнення інсулінорезистентності та пошук нових методів її корекції є пріоритетним завданням для фізіології та медицини. Функція мітохондрій, які є ключовими органелами, залученими у споживання кисню та продукцію енергії, при інсулінорезистентності пригнічується. Гіпоксія є потужним фактором впливу на організм, включаючи всі рівні його організації. Залежно від характеру впливу гіпоксія може виступати як пошкоджуючим агентом, так і стимулятором до регенерації або перебудови метаболізму. Більше того, порушення відповіді організму на гіпоксію може стати причиною розвитку інсулінорезистентності та цукрового діабету II типу.

Печінка, яка посідає центральне місце в регуляції вуглеводно-жирового обміну, є одним з органів, який безпосередньо здійснює ефекторну і регуляторну відповідь в умовах інсулінорезистентності. Будь-які регуляторні процеси пов'язані зі зміною внутрішньоклітинного кальцію, в тому числі обмін речовин у печінці. Зв'язок між інсулінорезистентністю, споживанням кисню і генерацією активних форм кисню та гіпоксією вочевидь призводить до ушкодження мітохондрій, проте інтервальна гіпоксія може виступати коригувальним фактором при ушкодженні печінки внаслідок її жирового переродження. Блокатори повільних кальцієвих каналів на сьогодні є широкоживаними терапевтичними засобами у клінічній практиці. Кальцієві механізми при інсулінорезистентності залучені як в процеси ушкодження, так

і в процесі регенерації та відновлення про- та антиоксидантного балансу. Проте одностайної думки про вплив гіпоксії за умов резистентності до інсуліну та роль кальцієвих механізмів у відповіді організму на гіпоксію за умов інсулінорезистентності на сьогодні немає. Тому тема дисертаційної роботи Завгороднього М.О. є актуальною.

Оцінка обґрунтованості наукових результатів дисертації, їх достовірності та новизни. Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в наступному. Вперше показано особливості перебудови патерну дихання та газообміну за умов інсулінорезистентності на тлі блокади повільних кальцієвих каналів. Встановлено, що вплив гіпоксії на щурів з інсулінорезистентністю викликаною високожировою дієтою, на відміну від щурів без інсулінорезистентності, спричиняє збільшення енергетичного метаболізму, внаслідок чого спостерігається перебудова патерну дихання, зростає вентиляція легень і робота всієї системи транспорту кисню. Таке збільшення запиту на кисень пов'язане із перемикання енергетичного метаболізму на використання жирових субстратів, що показано, зокрема, при дослідженні мітохондріального дихання тканин печінки.

Виявлено, що кальцієві механізми залучені у регуляцію мітохондріального дихання при перемиканні метаболізму печінки на жирові субстрати окиснення за умов нормоксії і гіпоксії. Гіпоксія посилює ефект блокади повільних кальцієвих каналів на енергетичний метаболізм в печінці при інсулінорезистентності. Блокада кальцієвих каналів при високожировій дієті нормалізує про- та антиоксидантний гомеостаз у печінці інсулінорезистентних щурів як в нормоксичних умовах, так і при гіпоксії.

Достовірність отриманих у дисертаційній роботі наукових результатів цілком забезпечується вдалою організацією та процедурою проведених досліджень, вміло підібраними і застосованими у роботі об'єктивними інструментальними методами, адекватними до об'єкта, предмета, мети і завдань дослідження.

Отримані на достатній кількості тварин фактичні дані є новими, а їх об'єктивність обґрунтована детальним аналізом стану досліджуваної проблеми у фізіології, теоретичними положеннями та статистичною обробкою отриманих результатів, позитивними результатами апробації основних положень дослідження та їх висвітлення у ряді опублікованих автором робіт. Дисертаційна праця відповідає спеціальності 091 Біологія. Зміст розв'язує важливу фізіологічну проблему по визначенню особливостей перебудови зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму у щурів при гіпоксії та інсулінорезистентності.

Наукові дослідження були виконані здобувачем у відділі гіпоксії інституту фізіології ім. О.О. Богомольця в рамках відомчих тем НДР відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Молекулярно-генетичні механізми впливу гіпоксії на перебіг запалення та метаболічних розладів» (номер державної реєстрації 0119U103909, 2020-2023 рр.) і за цільовою програмою «Підтримка пріоритетних для держави наукових досліджень і науково-технічних (експериментальних) розробок відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології НАН України за Постановою НАН України № 339 від 18.12.2019 (державний реєстраційний номер роботи 0120U001281).

Отже, поставлене в дисертаційній роботі наукове завдання по визначенню закономірностей перебудови зовнішнього дихання і енергетичного метаболізму при впливі гіпоксії та інсулінорезистентності, змін про- та антиоксидантного балансу печінки, та ультраструктури легень і печінки виконано повністю, здобувач повною мірою оволодів методологією наукової діяльності.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність, та дотримання принципів академічної доброчесності.

За своїм змістом дисертаційна робота здобувача Завгороднього Миколи Олеговича цілком відповідає спеціальності 091 Біологія та напрямкам досліджень у відповідності до освітньої програми «Біологія». Дисертаційна

робота є завершеною науковою працею і свідчить про наявність особистого внеску здобувача у наукову галузь 09 Біологія. Перевірка дисертаційної роботи на плагіат ознак академічного плагіату не виявила. Використані ідеї, результати і тексти інших авторів мають належні посилання на відповідні джерела у списку літератури.

Мова та стиль викладення результатів. Характеристика основних розділів дисертації. Дисертація написана українською академічною мовою, представлений матеріал викладений доступно та вирізняється послідовністю і логічністю. Застосований науковий стиль мовлення відповідає загальноприйнятим нормам термінології.

Анотація дисертаційної роботи є достатньою за обсягом і відображає основні результати дослідження українською і англійською мовами. Основний текст дисертації містить всі необхідні розділи, а саме вступ, огляд літератури, матеріали і методи, розділ з описом результатів та узагальнюючий розділ, який включає обговорення результатів і проміжні висновки, розділ висновків та список літератури із 165 найменувань, більшість з яких латиницею.

У огляді літератури детально описано сучасні уявлення про розвиток інсулінорезистентності у інсулін-залежних тканинах, зміни при впливі гіпоксії у різних органах і тканинах та особливості регуляції функції зовнішнього дихання (підрозділи 1.1, 1.2 та 1.3). Здобувач підкреслює проблематику досліджень, спираючись на узагальнення наприкінці розділу огляду літератури.

Розділ 2 (матеріали і методи) містить детальний опис використаних методів. У дослідженнях було використано 50 тварин, що є оптимальною кількістю для такого дослідження з точки зору біоетики, всі маніпуляції над тваринами проводились відповідно до законодавства по захисту хребетних тварин від жорсткого поводження, міжнародних конвенцій та підзаконних актів України. Інсулінорезистентність відтворювали утриманням на висококалорійній жировій дієті впродовж 14 діб із вмістом тваринних жирів у

обсязі 58% від загальної калорійності корму. Вплив гіпобаричної гіпоксії відтворювали за допомогою барокамери впродовж 3 годин. Окиснювальну функцію мітохондрій досліджували полярографічним методом за Чансом і Вільямсом. Морфологічні дослідження тканин печінки та легень проводили методом електронної мікроскопії. У дисертаційній роботі застосовано сучасні методи варіаційної статистики, з використанням 2- та 3-факторного аналізу ANOVA за допомогою пакету прикладних програм GraphPad Prism 8 (США).

Третій розділ дисертаційної роботи висвітлює результати дослідження, детально описані у 4 підрозділах: 3.1 – перебудова зовнішнього дихання, 3.2 – зміни енергетичного метаболізму печінки, 3.3 – зміни показників про- та антиоксидантного балансу у тканині печінки, 3.4 – зміни ультраструктури тканин легень та печінки. Показано, що за умов інсулінорезистентності при впливі гіпоксії спостерігається підвищення рівня споживання кисню, а дихальний коефіцієнт знижується, що може свідчити про перемикання метаболізму на окиснення жирових субстратів. Останнє впливає зі змін показників окиснювальної функції мітохондрій печінки. Показано також, що найбільш дієвим компонентом антиоксидантного захисту в печінці у відповідь на гіпоксію та інсулінорезистентність є каталаза. Блокада кальцієвих каналів L-типу прямо не впливає на енергетичний метаболізм у печінці, проте регулює про- та антиоксидантний баланс, зменшуючи кількість продуктів перекисного окиснення ліпідів. В роботі показано протективний вплив блокади кальцієвих каналів L-типу на метаболізм за умов гіпоксії та інсулінорезистентності.

Дисертаційна робота ілюструє сучасні погляди на теоретичні основи та уявлення щодо перебудови зовнішнього дихання і енергетичний метаболізм за гіпоксичних умов при інсулінорезистентності. Застосування у роботі Завгороднього М.О. інструментальних методів та оперування великою кількістю показників як зовнішнього дихання, так і енергетичного метаболізму і про- та антиоксидантного балансу, що охоплює як організмний та органний, так і клітинний і субклітинний рівень організації живого,

дозволило отримати надійні об'єктивні результати. Хочу зауважити, що ретельно зроблені мікрофото, яскраво демонструють ультраструктурні зміни в тканинах легень та печінки.

Висновки роботи відповідають поставленій у ній меті і завданням. Дисертаційна робота оформлена відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Оприлюднення результатів дисертаційної роботи. Результати дисертаційної роботи опубліковано у 4 статтях, 2 з яких у журналах, які належать до науково-метричної бази Scopus та 2 – у фахових українських виданнях категорії А. Доробок за темою дисертації також включає 19 публікацій апробаційного характеру.

Недоліки та зауваження до дисертаційної роботи

Принципових зауважень до дисертації немає. Однак є деякі недоліки, які не впливають на загальну високу оцінку роботи і не знижують її значення.

В роботі присутні незначні орфографічні та стилістичні помилки.

Також в ході рецензування з'явилися деякі дискусійні питання, на які бажано було б отримати відповіді.

1. Чому в роботі були використані саме ці 2 моделі, інсулінорезистентності та гіпоксії, як вони взаємопов'язані?

2. На основі яких критеріїв проводили підтвердження моделі інсулінорезистентності? Чи вираховували індекс НОМА-IR, і якщо так, то чи є взаємозв'язок між ступенем інсулінорезистентності та ймовірністю збільшеного споживання кисню?

3. Як ви пояснити, що під час інсулінорезистентності, гіпоксії та інших експериментальних умов не виявлено змін у рівні супероксиддисмутази (СОД) у тканині печінки щурів? Адже вона разом з каталазою відносяться до ферментативних компонентів антиоксидантного захисту і порушення їх співвідношення може призводити до додаткової генерації активних молекул кисню (АМК), що є одним із проявів окисного стресу (ОС).

4. В чому полягає перспектива застосування представлених результатів досліджень?

5. Чим обґрунтовується доцільність використання літературних джерел минулого сторіччя в чималій кількості?

Висновок про дисертаційну роботу.

Дисертаційна робота за своєю актуальністю, практичною цінністю та науковою новизною повністю відповідає вимогам чинного законодавства України, що передбачені в п.6-9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44.

Здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Рецензент


кандидат біологічних наук,

старший науковий співробітник

відділу імунофізіології

Інституту фізіології

імені О.О. Богомольця НАНУ


Н.Г. Грушка

«16» січня 2024 року

