

## **ВІДГУК**

офіційного опонента на дисертацію Панасюк Ольги Сергіївни «Вплив складових фосфоліпідів на функціональний стан ендотелію і мітохондрій серця», що подана на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

### **1. Актуальність теми**

Здається, відома біофізична проблема – яким чином ліпідне оточення впливає на функціонування мембранних білків – є суто теоретичною і хоча б частково розв'язаною для певних трансмембранних іонтранспортних систем. З іншого боку, омега-3 поліненанасичені жирні кислоти, які мають антиоксидантні властивості, вже давно рекомендується у медицині для сприяння здоровому розвитку та функціонування мозку, нервової, серцево-судинної, імунної систем, зниження рівня холестерину в крові та ризику тромбоутворення, зниження ризику та профілактики інфаркту міокарда та інсульту, атеросклерозу, покращення пам'яті, стану шкіри, при дієтах для корекції маси тіла тощо. Але їхній механізм дії на клітинному рівні до сьогодні залишається не з'ясованим. Тому дисертаційна робота, в якій є спроба комплексно розв'язати цю проблему не лише для іонтранспортних систем плазматичної мембрани, а й внутрішньої мембрани мітохондрій, є актуальною для серцево-судинної фізіології, клітинної фізіології, біоенергетики, патофізіології та кардіології.

Актуальність дисертації підтверджується тим, що вона виконана в рамках науково-дослідних проєктів Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України «Системні та молекулярно-генетичні дослідження механізмів розвитку гіпертрофії та недостатності серця» (№ держреєстрації 0110U004753), «Дослідження механізмів ремоделювання міокарда в патогенезі розвитку серцевої недостатності та її корекції» (№ держреєстрації 0114U007233), а також за часткової підтримки австрійського наукового фонду (FWF, № гранту P27238-B27) та швейцарського національного наукового фонду (SNSF, № гранту IZ73Z0\_152578).

Нижче, відповідно до вимог МОН України і на підставі вивчення дисертації, автореферату дисертації та праць здобувача, опублікованих за темою дисертації, наводжу своє бачення найсуттєвіших науково-теоретичних та практичних аспектів кандидатської дисертації Панасюк Ольги Сергіївни.



## **2. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Про високий ступінь обґрунтованості основних положень дисертації свідчить, насамперед, те, що дослідження проведені на достатній вибірці, цифрові дані були опрацьовані статистично, достовірність різниці між середньоарифметичними показниками перевіряли за t-критерієм Стюдента. У ході дослідження були коректно використані адекватні поставленій меті і завданням дисертації методи – виділення мітохондрій методом диференційного центрифугування, визначення відкриття мітохондріальної пори транзієнтної проникності за допомогою спектрофотометричної реєстрації їхнього набухання, реєстрація дихання мітохондрій з використанням електрода Кларка, петч-кламп у конфігурації *whole-cell*, *inside-out* і *mitoplast-attached*, а також статистично-математичної обробки даних. Це досить трудомісткі методи, і їхнє застосування свідчить про високу кваліфікацію дисертанта як дослідника-експериментатора, який здатний вирішувати складні методичні наукові проблеми серцево-судинної фізіології, клітинної фізіології і біоенергетики.

Об'єктивність результатів досліджень і висновків, наведених у дисертації, підтверджується фактичним матеріалом, який наводиться у експериментальній частині роботи, та ґрунтовністю його аналізу. Суттєво полегшує сприймання фактичного матеріалу і проведення його наукової експертизи ілюстративний матеріал, представлений на 18 рисунках та 2 таблицях.

Дисертант критично підійшла до обговорення даних наукової літератури і результатів власних досліджень, що дає підстави говорити про її наукову обізнаність та здатність орієнтуватися у сучасних проблемах серцево-судинної фізіології, клітинної фізіології і біоенергетики.

Основні положення дисертації були апробовані на 7-и наукових форумах в Україні та закордоном (Грац, Австрія, 2008; Атени, Греція, 2008; Сімферополь-Місхор, Україна, 2012; Шрокен, Форарльберг, Австрія, 2008; Вінниця, Україна, 2014; Генуя, Італія, 2017; Одеса, Україна, 2016), що переконує у доцільності таких досліджень і значенні отриманих результатів.

Отже, ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, наведених у рецензованій дисертації, є високим, а Панасюк Ольга Сергіївна обізнана з результатами основних наукових досліджень, вміє критично аналізувати наукові



факти, інтерпретувати їх, що дозволило їй адекватно вирішити поставлену наукову проблему.

### **3. Достовірність і новизна наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Результати аналізу фактичних даних, наведених у кандидатській дисертації Панасюк Ольги Сергіївни, їхнього взаємозв'язку і причино-наслідковості переконливо свідчать про те, що вони є достовірними.

Отримані дисертантом наукові результати є новими і пріоритетними. Найбільш цінними, на мій погляд, є такі експериментальні дані.

Показано, що інтерфібрилярна та субсарколемальна фракції мітохондрій серця мають однакову кінетику  $\text{Ca}^{2+}$ -індукованого набухання, проте захисний ефект омега-3 поліненасичених жирних кислот є суттєвіше виражений у інтерфібрилярних мітохондріях. Омега-3 поліненасичені жирні кислоти запобігають набуханням та зниженню ефективності дихання мітохондрій за ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда. Виявлений захисний ефект є суттєвіший в інтерфібрилярних мітохондріях. Показана роль мітохондріальних та ендотеліальних  $\text{Ca}^{2+}$ -керованих  $\text{K}^+$ -каналів великої провідності (ВКСа-каналів) в кардіопротекції за дії омега-3 поліненасичених жирних кислот. Докозагексаєнова кислота збільшує активність ендогенно експресованих мітохондріальних ВКСа-каналів, не змінюючи амплітуди струму через поодинокі канали. Ця кислота спричиняє гіперполяризацію ендотеліальних клітин внаслідок стимуляції ендотеліальних ВКСа-каналів. Чутливість ВКСа-каналів до омега-3 поліненасичених жирних кислот залежить від рівня мембранного холестерину. Досліджено також вплив лізофосфоліпідів на активність ВКСа-каналів. На лінії ендотеліальних клітин EA.hy926 продемонстровано, що лізофосфатиділхолін та лізофосфатиділінозітол підсилюють активність ВКСа-каналів, що спричиняє гіперполяризацію цих клітин.

Отримані результати безсумнівно є важливими для подальших досліджень особливостей залежності функціонування мембранних білків від ліпідного оточення і є цінними для клітинних фізіологів, біоенергетиків, кардіологів тощо.

### **4. Запитання, зауваження та рекомендації з боку опонента**

Вважаючи, що кандидатська дисертація Панасюк Ольги Сергіївни має високий теоретичний і методичний рівень, я хочу зробити деякі зауваження і



задати декілька дискусійних питань дисертанту стосовно оформлення дисертації та автореферату, фактичного матеріалу та інтерпретації отриманих результатів:

1. У тексті дисертації та авторефераті є певна кількість помилок редакційного характеру та недоречне використання деяких термінів, на зразок, «споживання таких ЖК, як омега-3 ПНЖК, спричиняє позитивний вплив на виникнення та тяжкість ССЗ [Bjerregaard P, 1988]» (термін *позитивний* може означати і покращання стану здоров'я пацієнта, і підсилення важкості протікання хвороби), «активні форми *кисню*» (оксигену), «*електричні реакції* внутрішньої мембрани мітохондрій» (генерація мембранного потенціалу мітохондрій), «*спонукає* ріанодинові рецептори» (активує), «високий ступінь спряження окисного фосфорилування мітохондрій» (не зрозуміло з чим) тощо. Обережно я б відносився до використання терміну «гомеостаз кальцію», якщо мова йде про клітинні процеси. Як мінімум, у частині випадків доречніше вживати поняття «Ca<sup>2+</sup>-сигналізація».
2. Окремо хочу зробити зауваження щодо засилля аббревіатур у тексті дисертації. Вони розшифровуються і в «Переліку умовних скорочень», і в тексті самої роботи. Думаю, що така велика кількість аббревіатур є недоречною та утруднює аналіз тексту.
3. На с. 28 дисертації ви пишете «Загальновідомо про кальцієву чутливість ключових ферментів ЦТК, які включають в себе гліцерол-3-фосфат дегідрогеназу, ізоцитратдегідрогеназу,  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназу та піруватдегідрогеназу [48]». Насправді, ензимами циклу трикарбонових кислот із перелічених є лише ізоцитратдегідрогеназа та  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназа. Хоча таке саме речення зустрічається в огляді Jessica L. Cao et al., 2019, яку ви цитуєте, із посиланням на огляд George S.B. Williams et al., 2015. В останньому огляді стосовно ФАД-гліцерол-3-фосфат дегідрогенази використовується слово *affiliated* – приєднаний, дотичний – до циклу трикарбонових кислот. Немає у цій статті і твердження, що піруватдегідрогеназа є ензимом циклу трикарбонових кислот.
4. Чому як субстрат окиснення ви використовували ФАД-залежний субстрат – сукцинат і чому у концентрації 10 мМ? Чи не варто було перевірити результати, використавши інші субстрати, зокрема Ca<sup>2+</sup>-залежних дегідрогеназ – піруват чи  $\alpha$ -кетоглутарат?



5. Описуючи метаболічні стани, ви посилаєтеся, у т.ч., на класичну роботу Chance, Williams, 1956. Але за Чансом у метаболічному стані 2 немає екзогенних субстратів окиснення, а є лише АДФ. У вас – навпаки.
6. У роботі відсутнє пояснення, яку лінійну частину полярографічного запису ви використовували для визначення швидкостей дихання у відповідних метаболічних станах. Як ви розраховували коефіцієнт АДФ/О?

Проте ці зауваження і питання не мають принципового значення і суттєво не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

#### **5. Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані у дисертації, в опублікованих працях**

Наукові положення, висновки і рекомендації повністю висвітлені у 15 наукових публікаціях, в тому числі у 8 статтях (з них 4 реферовані у наукометричній базі Scopus (Author ID: 55263261200), причому одна з них має 9 цитувань), що є свідченням високого рівня отриманих результатів.

#### **6. Щодо відповідності встановленим вимогам**

Дисертаційне дослідження Панасюк Ольги Сергіївни є завершеною, самостійно виконаною науковою працею, в якій отримано нові науково-обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу і є важливими для серцево-судинної фізіології, клітинної фізіології, біоенергетики і медицини. Науковий зміст автореферату відповідає науковим положенням дисертації.

#### **7. Важливість для науки і народного господарства одержаних автором результатів. Рекомендації щодо їхнього використання**

У науково-теоретичному відношенні результати дисертаційної роботи Панасюк Ольги Сергіївни є важливими, оскільки отримано принципово нові дані щодо механізмів кардіопротекції під дією складових фосфоліпідів, які включають стимуляцію ВКСа-каналів плазматичної мембрани ендотеліальних клітин та внутрішньої мітохондріальної мембрани кардіоміоцитів, зменшення чутливості мітохондріальної пори транзйентної проникності до індуктора її переходу в стан високої проникності  $\text{Ca}^{2+}$  та модуляцію параметрів дихання мітохондрій. Крім того, вважаю за доцільне використання основних положень дисертації під час читання лекцій із нормативного курсу «Фізіологія людини і тварин», а також



таких спеціальних курсів закладів вищої освіти, як «Фізіологія серцево-судинної системи», «Клітинна фізіологія», «Біоенергетика», «Кардіологія» тощо.

## 8. Висновок

Кандидатська дисертація Панасюк Ольги Сергіївни є актуальним і фундаментальним дослідженням у галузі серцево-судинної фізіології, клітинної фізіології, біоенергетики і медицини. У ході виконання цієї роботи були отримані вагомі наукові результати щодо ролі ліпідного оточення у функціонуванні мембранних білків плазматичної мембрани і внутрішньої мембрани мітохондрій. Ці результати є фундаментальними і важливими. За рівнем наукової новизни ці результати відповідають вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук. Тема роботи, об'єкт та предмет дослідження, її зміст, а також положення та висновки відповідають паспорту спеціальності 03.00.13 – фізіологія людини і тварин. У дисертаційній роботі містяться раніше незахищені наукові положення.

Отже, дисертаційна робота відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р., № 567 (із змінами), які висуваються до кандидатських дисертацій, а її авторка Панасюк Ольга Сергіївна повністю заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент –

завідувач кафедри фізіології людини і тварин

Львівського національного університету імені Івана Франка

доктор біологічних наук, професор



В.В. Манько

26.01.2021 р.

Підпис професора Манька В.В. засвідчую.

Вчений секретар

Львівського національного університету

імені Івана Франка, доцент



О.С. Грабовецька