

## **ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА**

**доктора медичних наук, професора, завідувача відділу фармакології  
клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії ДУ  
«Інститут фармакології та токсикології НАМНУ»**

**Соловйова Анатолія Івановича**

**про науково-практичну цінність дисертаційної роботи**

**Панасюк Ольги Сергіївни**

**«ВПЛИВ СКЛАДОВИХ ФОСФОЛІПІДІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ  
СТАН ЕНДОТЕЛІЮ І МІТОХОНДРІЙ СЕРЦЯ»**

**представлену на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук за  
спеціальністю 03.00.13 – Фізіологія людини і тварин**

### **Актуальність проведених досліджень**

Необхідність дослідження ендогенних механізмів кардіопротекції зумовлюється, крім розповсюдженості серцевосудинних захворювань (ССЗ), доцільністю профілактичного підходу до лікування цих патологій. Активація ендогенних факторів - вкрай важливий механізм захисту клітин міокарда від патологічних факторів.

Визначення функції екзогенних і ендогенних ліпідів є важливою метою через різноманітність хімічних та фізичних властивостей ліпідів та той факт, що кожен тип ліпідів потенційно діє на різні рівні клітинних функцій.

Враховуючи вагому роль мітохондріальної та ендотеліальної дисфункції в розвитку патологій серцево-судинної системи (ССС), фармакологічна корекція цієї дисфункції є перспективним напрямком профілактики та лікування ССЗ.

У зв'язку з цим, дана робота, яка проведена здобувачкою, має важливе значення для розширення існуючих уявлень щодо профілактики ССЗ та пошуку нових мішеней як для захисту міокарда, так і для пошуку нових підходів для підвищення ефективності терапії ССЗ.

Таким чином, актуальність даного дисертаційного дослідження не викликає сумнівів.

### **Дотримання норм біоетики:**

Експериментальні дослідження, дисертаційної роботи проводились із використанням піддослідних щурів та мишей. При проведенні дослідів було дотримано положення Конвенції з біоетики Європейської Ради (1997 року), Гельсінської декларації Всесвітньої Медичної Асоціації (1996 року), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 рік), загальні етичні принципи наукових досліджень, ухвалені Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року) та Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 року), що було підтверджено комітетом біомедичної етики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця.

### **Наукова новизна отриманих результатів, їх теоретичне та практичне значення**

Вперше порівняно захисний ефект омега-3 ПНЖК між двома фракціями мітохондрій при Ca-індукованому пошкодженні. Вперше показано захисний вплив омега-3 ПНЖК проти ізопротереноліндукованого пошкодження мітохондрій та порівняно дві фракції між собою.

Вперше продемонстровано, що мембранний холестерол необхідний для чутливості ВКСа-каналів до дії докозагексаєнової кислоти (представника омега-3 ПНЖК)

Показано, що лізофосфатидилхолін має пряму модулюючу дію на ВКСа-канали, що призводить до гіперполяризації ендотеліальних клітин (ЕК). При цьому, ЛФХ інгібує гіперполяризацію ЕК в відповідь на ацетилхолін та гістамін шляхом пригнічення входу кальцію через  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінник.

Результати дисертації мають фундаментальне і практичне значення, так як виявлені в роботі закономірності можуть стати основою для розробки засобів фармакологічної корекції захворювань серцево-судинної системи, пов'язаних з порушенням ліпідного обміну або нестачею надходження з їжею незамінних омега-3 ПНЖК.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи, повнота викладення в опублікованих роботах, їх достовірність і новизна.**

Кількість друкованих робіт відповідає вимогам ДАК МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата наук. Зміст автореферату відповідає основним положенням дисертації.

Матеріали дисертації опубліковано у 15 наукових працях, в тому числі 8 статей у фахових наукових журналах, одна стаття - в журналі *Vascular Pharmacology* -у науковому виданні, віднесеному до першого квартилю (Q1) відповідно до класифікації *SCImagoJornalandCountryRank*. А також 7 тез доповідей, в тому числі 4 - на зарубіжних конференціях.

Наукові положення дисертаційної роботи базуються на застосуванні адекватних поставлених меті і завданням роботи методах.

Винесені на захист положення ґрунтуються на аналізі матеріалів власних досліджень, володіють науковою новизною, обговоренні в контексті сучасних літературних даних. Наявні цитування на опубліковані дисертанткою статті.

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

Дисертаційну роботу виконано згідно з планами науково-дослідних робіт відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в рамках 2 тем. Робота була виконана за часткової підтримки австрійського наукового фонду (FWF, номер гранту P27238-B27) та швейцарського національного наукового фонду (SNSF, номер гранту IZ73Z0\_152578)

### **Структура і обсяг дисертації, оцінка її завершеності та відповідності встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Панасюк О.С. побудована за загальноприйнятою формою у відповідності до вимог МОН України. Роботу викладено на 133 сторінках, що включає в себе анотацію, список наукових праць по темі дослідження, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів досліджень, опис та ілюстрації результатів досліджень, обговорення результатів, висновки та список цитованої літератури (224 найменування). Основний текст роботи викладено на 110 сторінках. Методи досліджень та отримані результати проілюстровані 18 рисунками і 2 таблицями, які дають повне уявлення про об'єм та якість проведених досліджень.

Далі вказується зв'язок роботи з науковими програмами Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, де вона виконувалася, зазначається наукова новизна, теоретичне та практичне значення результатів, відомості щодо особистого внеску здобувача, апробації матеріалів дисертаційного дослідження та публікацій по темі дослідження.

В розділі 1 (Огляд літератури) автор аналізує сучасну літературу щодо впливу ліпідів на функціонування мітохондрій та ендотелію судин серцево-судинної системи. Огляд літератури свідчить про високу обізнаність дисертантки у всіх питаннях, пов'язаних з досліджуваною проблемою, про ретельний аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури і повністю відповідає основним напрямкам дослідження.

В розділі 2 (Матеріали і методи дослідження) описуються експериментальні тварини, розчини та середовища для культивування клітин. Описується виділення двох фракцій мітохондрій з міокарда щурів, реєстрація поглинання кисню ізольованими мітохондріями, спектрофотометрична реєстрація набухання мітохондрій, приготування препаратів аорти та яким чином відбувалась реєстрація електричної активності культуральних клітин та препарату аорти в тих чи інших конфігураціях. Обрані методики є адекватними, сучасними, а дані отримані за їх допомогою доповнюють і пояснюють одне одного.

Розділ 3 (Результати досліджень) складається з 6 підрозділів, в яких наведені основні результати досліджень.

В розділі 4 отримані результати узагальнюються та обговорюються у порівнянні з даними попередніх дослідників, робляться підсумки. Це дозволило прийти до аргументованих висновків, які відповідають поставленим завданням і повністю ґрунтуються на отриманих результатах.

Дисертація містить сукупність нових наукових результатів та свідчить про особистий вклад здобувача в науку.

**Під час рецензування дисертаційної роботи виникли наступні запитання та зауваження**

1. Моє перше зауваження стосується назви роботи. Мова, звичайно, йде не про складові фосфоліпідів, а про їх похідні, Лізоформи фосфоліпідів являть собою продукт деградації фосфоліпідів і подібно діоловим фосфоліпідам мають здатність пошкоджувати клітинні мембрани. З лізофосфатиділхоліна, наприклад, за участю ацетил-коферменту А утворюється добре відомий фактор, що ушкоджує мембрани - ФАТ - фактор активації тромбоцитів.
2. Інше зауваження загального характеру стосується визначення об'єкта дослідження. Навряд чи з повною впевненістю можна говорити про

ендогенні механізми кардіопротекції. Правильніше було б зазначити що має місце вивчення впливу екзогенних фосфоліпідів на ендогенні механізми кардіопротекції.

3. Що стосується статистичної обробки матеріалів дослідження. Використовувався  $t$  критерій Стюдента. У той же час при аналізі результатів використовуються множинні порівняння. Отже потрібна ANOVA, перевірка на нормальність розподілу. Інакше, потрібно використовувати непараметричні критерії аналізу.
4. На жаль, не вказуються рівні оксигенації розчинів, в яких проводилися вимірювання струмів і мембранного потенціалу ендотеліальних клітин і мітопластів. Це важливо, тому що рівень перекисного окислення ліпідів прямо залежить від рівня оксигенації розчину.
5. При аналізі активності поодиноких каналів під впливом докозагексаєнової кислоти в авторефераті не приводиться показник активності поодиноких каналів  $NP_0$ . Вказується, що реєструється прямий підсилюючий ефект на активність ВК каналів, але не деталізується за рахунок чого це має місце - за рахунок збільшення числа каналів у петчі або за рахунок збільшення ймовірності знаходження каналу у відкритому стані.
6. Лізофосфатиділхолін викликає гіперполяризацію ендотеліальних клітин на 20 мВ. Це велика величина. При цьому на вольтамперной характеристиці в цьому діапазоні потенціалів вихідний струм не реєструється. Він починає рости тільки при нефізіологічних значеннях потенціалу практично лінійно до 1300 рА. Це дуже схоже на те, що має місце пошкоджено мембрани з порушенням цілісності з формуванням калієвого шунта.
7. З чим пов'язано на Ваш погляд зменшення мітохондріального мембранного потенціалу під дією омега-3 ПНЖК?

8. Як можна пояснити різну чутливість до кальцію інтерфібрилярної і субсарколемальної фракції мітохондрій під дією омега-3 ПНЖК в умовах ізопротеренол-індукованого пошкодження міокарда?

Висловлені зауваження суттєво не впливають на загальну високу оцінку даної дисертаційної роботи.

#### **Висновок:**

Згідно з пунктами 9, 11, 12, 13 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013 р. (зі змінами), вважаю, що за своєю актуальністю, науковою новизною, високим методичним рівнем, теоретичною та практичною значимістю, об'ємом проведених досліджень, обґрунтованістю та достовірністю зроблених узагальнень і висновків, а також перспективами наукового і практичного застосування дисертаційна робота Панасюк Ольги Сергіївни «ВПЛИВ СКЛАДОВИХ ФОСФОЛІПІДІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕНДОТЕЛІЮ І МІТОХОНДРІЙ СЕРЦЯ» відповідає всім вимогам до дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – Фізіологія людини і тварин.

#### **Офіційний опонент**

доктор медичних наук, професор, завідувач відділу фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ»

**Соловйов Анатолій Іванович**

Підпис засвідчую, вчений секретар,



Хавич О.О.