

ВІДЗИВ ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу **Болгової Тетяни Вікторівни**

«Структурно-динамічні та функціональні особливості мітохондрій легень і серця при різних режимах інтервальних гіпоксичних тренувань», поданої до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 26.198.01 при Інституті фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

1. Актуальність обраної теми.

Актуальність обраної теми не викликає сумніву. Виникнення гіпоксії та її розвиток супроводжуються рядом адаптивних, або дезадаптивних змін в організмі, які розвиваються на різних рівнях його організації: на системному, органному та молекулярному. Це зумовлює зрушення у діяльності органів, що беруть безпосередню участь у забезпеченні організму киснем, зокрема, серці та легенях, а також зміни ефективності споживання O_2 і його утилізації в клітинах, що може сприяти підвищенню резистентності організму до самої гіпоксії та до певних ендогенних і екзогенних впливів. Та незважаючи на те, що роль мітохондрій в розвитку гіпоксії у значній мірі досліджена, відомостей щодо морфологічних та функціональних змін, що відбуваються в них навіть при застосуванні найбільш поширених режимів інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) надзвичайно мало для розуміння механізмів, що зумовлюють розвиток істотних конструктивних змін (та переваги їх над деструктивними) і адаптивний вплив ІГТ. Актуальність роботи обумовлена також тим, що як у клінічній, так і спортивній практиці є вкрай необхідною потреба попередження розвитку гіпоксичних пошкоджень мітохондрій легень і серця та підвищення функціональних можливостей цих органів.

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

Дисертаційна робота виконана в рамках наукової тематики відділу по вивченню гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України «Дослідження механізмів адаптації організму людини і тварин до різних режимів інтервальної гіпоксичної гіпоксії» (№ держреєстрації 0105U003238).

3. Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Основні положення та висновки дисертації обґрунтовані достатньою кількістю якісно проведених досліджень. Автором дисертації чітко окреслені мета та завдання дослідження.

Завдання дослідження, положення наукової новизни і висновки дисертації є логічно взаємопов'язаними. Результати досліджень отримані автором особисто.

Дисертаційна робота Болгової Т.В. є оригінальною науковою працею, яка виконана на належних методичному та теоретичному рівнях. Робота має послідовну та логічну структуру і є комплексним та завершеним науковим дослідженням. Зміст роботи свідчить про високий рівень наукової компетентності автора.

Подане вище свідчить про обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, що викладені у дисертаційній роботі Болгової Т.В.

4 Достовірність основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, проведених наукових досліджень та одержаних результатів.

Сформульовані Болговою Т.В. основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань методів дослідження, зокрема, фізіологічних, гістологічних, біохімічних та методів математичної статистики. Перераховане вище дозволяє оцінити одержані результати, основні наукові положення та висновки досліджень як достовірні.

Дослідження проведені з дотриманням загальноновизнаних принципів біоетики у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей (Страсбург, 1986), принципами Гельсінської Декларації (2000), Закону України № 3447 IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”. План проведення та організація експериментів схвалені комісією з питань біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ.

5. Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів.

У дисертаційній роботі Болгової Т.В. сформульовано та обґрунтовано ряд положень, висновків і пропозицій, які відзначаються науковою новизною та мають практичну спрямованість. Наукові положення сформульовані автором самостійно та відображають особистий внесок дисертанта у розвиток біологічної науки.

Результати проведених Болговою Т.В. досліджень розширюють сучасні уявлення про механізми адаптації до різних режимів інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГТ) та поглиблюють вже існуючі знання про формування адаптивної відповіді на гіпоксичні стимули різного типу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що формування адаптивної відповіді при ІГТ із помірною гіпоксичною складовою у легенях і міокарді відбувається за

рахунок активізації біогенезу мітохондрій (Мх), їх динаміки, зміни форми крист на більш енергоємну та на функціональному рівні супроводжується зростанням ефективності фосфорилування та величини дихального контролю при окисненні НАД-залежних субстратів, що вказує на підвищення енергетичного стану клітини. Адаптивний вплив ІГТ із 7% O_2 в N_2 також проявлявся в активізації біогенезу Мх, однак, на фоні виражених деструктивних змін у Мх (зростання вакуолізованих органел, пошкодження мембран Мх, розрідження крист, просвітлення матриксу, поява мієлінізованих органел у міокарді). Цей режим ІГТ, на думку Болгової Т.В., не призводив до підвищення функціональної потужності Мх, хоча дозволяв підтримувати її на рівні контрольних показників.

У роботі показано, що високі рівні експресії мРНК NRF -1 ініціюються застосуванням більш жорстких гіпоксичних впливів, тоді як при ІГТ із помірною гіпоксичною складовою реєстрували помірне зростання рівнів експресії мРНК NRF 1 в обох досліджуваних органах. Такі дані дозволяють розглядати рівні експресії цього фактору як можливу межу адаптивних та дезадаптивних змін, що формуються під час різних режимів ІГТ. Ефективність адаптивних перебудов, що виявляються на фоні тестуючої дії гострого гіпоксичного навантаження під час проведення ІГТ із 12% O_2 в N_2 , пов'язана з підвищенням інтенсивності роботи дихального ланцюга Мх за умов окиснення як ФАД-, так і НАД-залежних субстратів. Ці зміни пов'язані з підвищенням споживання кисню та ефективності його використання для синтезу макроергів і спряження дихання з фосфорилуванням. Зафіксована відсутність виражених адаптивних перебудов енергетичної функції Мх легень і серця, що виявлялася після тестуючого гіпоксичного навантаження, застосованого на фоні ІГТ з 7% O_2 в N_2 . Зниження функціональної потужності Мх у легенях і серці супроводжувалося зростанням серед мітохондріальної популяції органел із деструктивними змінами, деякі з яких свідчили про повну втрату їх функціональних можливостей.

6. Практичне значення одержаних результатів.

Результати проведених Болговою Т.В. досліджень дозволили встановити структурно-динамічні та функціональні особливості мітохондріального апарату легень і серця, що формуються на тлі застосування двох режимів ІГТ - із помірною та більш жорсткою гіпоксичною складовою, та оцінити ефективність адаптивних перебудов, які мають місце при застосуванні обраних режимів ІГТ. Так, застосування режиму ІГТ із помірною гіпоксичною складовою впродовж трьох тижнів дозволило сформувати структурно-динамічні та функціональні адаптивні перебудови в обох досліджуваних тканинах та не призводило до суттєвих деструктивних змін. Застосування ІГТ із більш жорсткою гіпоксичною складовою також супроводжувалося деякими адаптивними змінами Мх, хоча їх вираженість була

значно меншою. Отримані експериментальні дані дозволяють припустити, що ІГТ із помірною гіпоксичною складовою у клінічній і спортивній практиці може виступати як ефективний нефармакологічний метод підвищення адаптивних резервів легень і серця, однак, враховуючи певні деструктивні зміни Мх, бажано застосовувати цей метод у комплексі із іншими антигіпоксичними засобами. Ймовірність підвищення адаптивного резерву у легенях і серці за допомогою ІГТ із більш жорсткою гіпоксичною компонентою також можлива, однак, виходячи з отриманих даних, лише для організму, який має високу стійкість до гіпоксичних стимулів.

Результати проведених досліджень можуть знайти використання у клінічній та спортивній практиці з метою попередження розвитку гіпоксичних пошкоджень Мх легень і серця та підвищення функціональної потужності цих тканин. Отримані результати можуть бути впроваджені в навчальному процесі при викладанні курсів «Фізіологія людини і тварин» та «Патологічна фізіологія» для студентів біологічних і медичних спеціальностей.

7. Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях та в авторефераті.

За результатами дослідження опубліковано 12 наукових праць, з яких 6 статей у вітчизняних наукових фахових виданнях, рекомендованих Департаментом акредитації кадрів України, з них 2 у SciVerse Scopus та 6 тез доповідей на наукових конференціях. Публікації та автореферат у повній мірі відображають зміст дисертаційної роботи. Основні наукові положення дисертаційного дослідження повністю викладені у представлених публікаціях та обговорені на фахових наукових зібраннях.

Всі розділи автореферату повторюють матеріали дисертаційної роботи, де автором чітко, послідовно та лаконічно викладені основні положення, результати та висновки дослідження. Автореферат дисертації оформлений згідно сучасних вимог ДАК України.

8. Структура дисертації.

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів дослідження з їх обговоренням, аналізу та узагальнення результатів досліджень, списку використаних літературних джерел. Робота викладена на 140 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 24 рисунками та 12 таблицями. Список літератури включає 184 найменування, з них 131 англійською мовою.

Дисертація виконана державною мовою, якою автор володіє досконало. Стиль дисертації відповідає вимогам, що висуваються до наукових праць такого рівня, а також відзначається логічністю, послідовністю, системністю, обґрунтованістю. Структура

дисертації цілком узгоджується з її назвою, метою і завданнями дослідження. Зміст та результати роботи відповідають паспорту спеціальності 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Об'єкти та методи дослідження повністю відповідають основним напрямкам роботи. У дисертаційному дослідженні використані високоінформативні методи фізіологічних, гістологічних, біохімічних досліджень та методи математичної статистики.

В огляді літератури надано логічний та структурований аналіз сучасних наукових публікацій із досліджуваної проблеми. Узагальнено сучасні дані про роль мітохондрій у формуванні адаптивної відповіді до гіпоксії. Проаналізовано особливості структури, функцій, динаміки, протеоміки та біогенезу мітохондрій як ключових органел клітинного метаболізму. Показано перспективи подальших досліджень з цієї проблеми. Зокрема, необхідність з'ясування особливостей ультраструктури, просторової організації, дихальної функції та біогенезу Мх легень і міокарду при різних режимах ІГТ.

У розділі «Матеріали і методи досліджень» описано загальну організацію досліджень, використані під час експериментів методики та устаткування, засоби і речовини, методи статистичної обробки експериментальних даних. Всі застосовані методи та методики є об'єктивними, відповідають меті та завданням дисертаційної роботи.

У двох розділах результатів власних досліджень логічно викладені отримані дисертантом результати. Перший розділ присвячений порівняльному аналізу адаптивного впливу двох режимів ІГТ на морфо-функціональний стан мітохондрій легень і серця. У першому підрозділі цього розділу мова йде про морфо- та стереометричні характеристики мітохондрій в тканинах легень та серця; у другому – про рівні експресії мРНК NRF-1 в тканинах легень та серця; у третьому – про зміни дихання і фосфорилування у мітохондріях в тканинах легень та серця. Другий розділ роботи містить інформацію про тестуюче гіпоксичне навантаження як фактор виявлення якості адаптивних змін мітохондріального апарату, сформованих під час ІГТ. У першому підрозділі даного розділу представлені морфо- та стереометричні характеристики мітохондрій в тканинах легень та серця при тестуючому гіпоксичному навантаженні; у другому – рівні експресії мРНК NRF-1 в тканинах легень та серця при тестуючому гіпоксичному навантаженні; у третьому – зміни дихання і фосфорилування у мітохондріях в тканинах легень та серця при тестуючому гіпоксичному навантаженні.

Рівень викладення та аналізу матеріалу у цих розділах і підрозділах вказує на належну фахову підготовку дисертанта.

У розділі узагальнення результатів досліджень Болгова Т.В., спираючись на літературні дані, аналізує та обговорює можливі фізіологічні механізми отриманих результатів.

9. Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.

Оцінюючи в цілому дисертаційне дослідження позитивно, слід зазначити, що серйозних недоліків, які б ставили під сумнів одержані автором висновки, дисертаційна робота не містить, але у ній присутні деякі моменти дискусійного характеру.

1. В дослідженнях були використані лише самці щурів. Чим обумовлений такий підхід?
2. Чому в підрозділі «Визначення функціонального стану мітохондрій» не вказані одиниці вимірювання показників дихання і окисного фосфорилування та яким чином їх розраховували? Також відсутня у інформація про те, як здійснювали калібрування полярографічної установки.
3. Розділ 3 (результати власних досліджень) починається зі вступної частини на 4,5 сторінки, яка більшою мірою мала б бути представлена в «Огляді літератури», а для вступу достатньо було б 1-1,5 сторінки.
4. На скільки доречним на рисунках 3.1 і 3.2 є підпис «Ультраструктура мітохондрій легень і міокарду...», на яких ледве помітні лише самі мітохондрії. А щодо внутрішньої будови мітохондрій, зокрема, її подвійної мембрани, крист, матриксу з мітохондріальними рибосомами та гранулами, то взагалі мова не йде.
5. З чим, на думку автора, можна пов'язати те, що при застосуванні інтервальних гіпоксичних тренувань з 7% O₂ в N₂ виникало десятикратне зростання рівня експресії мРНК NRE-1 у легенях і лише у 1,5 рази в міокарді?
6. У тексті роботи говориться про те, що зміни досліджуваних показників були вірогідними, або ж ні, але в жодному випадку не представлено ступінь статистичної достовірності змін – p.
7. Як у дисертаційній роботі, так і в авторефераті інколи зустрічаються прикрі орфографічні помилки та не зовсім вдалі висловлювання. Так, наприклад, потрібно писати «численні фактори», а не «чисельні фактори», «окиснення», а не «окислення», «відіграють роль», а не «грають роль» і таке інше.

Викладені зауваження і запитання не мають принциповий характер та не знижують позитивну оцінку дисертації в цілому, а також одержаних результатів досліджень та розроблених автором наукових положень і висновків.

Висновок

Дисертаційна робота Болгової Тетяни Вікторівни «Структурно-динамічні та функціональні особливості мітохондрій легень і серця при різних режимах інтервальних гіпоксичних тренувань» є завершеним, оригінальним, самостійним науковим дослідженням, що висвітлює актуальну тему і має теоретичне та практичне значення. За рівнем наукової новизни подані у дисертаційній роботі результати відповідають вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних 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. Дисертаційна робота містить раніше не захищені наукові положення.

Таким чином, на підставі аналізу дисертації Болгової Т.В., автореферату її дисертації, наукових публікацій у фахових наукових виданнях можна зробити висновок, що дисертаційна робота виконана на належному теоретичному і методичному рівні, відповідає вимогам щодо дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, зокрема пп. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів...», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а автор дисертації – Болгова Тетяна Вікторівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент -
доктор біологічних наук, професор,
Навчально-науковий центр "Інститут біології"
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
професор кафедри фізіології людини і тварин



П.І. Янчук

Підпис проф. Янчука П.І. засвідчую:

Вчений секретар НДЧ
Київського національного
університету імені Тараса Шевченка

ПІДПИС ЗАСВІДЧУЮ
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР
КАРАУЛЬНА Н.В.

31.10

Н.В. Караульна

