

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Сабадашки Марії Володимирівни
«Дія концентрату поліфенольного комплексу з виноградного вина за радіоіндукованого оксидативно-нітративного стресу», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – «біохімія».

1. Актуальність дисертаційної теми та її зв'язок з державними чи галузевими науковими програмами.

Актуальність проведеного дослідження ґрунтується на необхідності з'ясування механізмів дії поліфенолів виноградного вина на розвиток оксидативно-нітративного стресу, який протікає в організмі тварин за впливу іонізуючого випромінювання. Як відомо, іонізуюче випромінювання ушкоджує клітини, ініціюючи збудження та іонізацію біомолекул, у результаті розвивається оксидативний стрес, що супроводжується безконтрольною генерацією АФО, надмірною ліпопероксидацією та порушенням активності антиоксидантних ензимів. Крім цього, при опроміненні у клітинах інтенсифікується утворення оксиду нітрогену та активних його форм, які можуть індукувати зупинку клітинного циклу. У той же час за дії поліфенолів червоного вина у клітинах індукується експресія генів, що кодують ензими АОЗ, змінюється активність NOS через вплив на концентрацію Ca^{2+} в клітині та фосфорилування ключових протеїнів шляху фосфатидилінозитил-3'кінази/Акт. Тому, беззаперечно, що робота, яка спрямована на можливість розробки науково обґрунтованих методів корекції метаболічних порушень, пов'язаних з оксидативно-нітративним стресом, який протікає в організмі тварин за впливу іонізуючого опромінення, є актуальною як у науковому, так і практичному аспектах.

Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідної роботи кафедри біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка за темою «Протекторний ефект природного поліфенольного комплексу винограду за умов радіоіндукованого оксидативно-нітративного стресу» та угоди про творчу та науково-технічну співпрацю між кафедрою біохімії біологічного факультету та Національним інститутом винограду та вина "Магарач". Важливим є те, що робота була підтримана індивідуальним грантом від Західно-Українського Біомедичного Центру за темою «Radioprotective Effects of Natural Polyphenolic Complexes of Crimean Grape Wine at Oxidative/Nitrative Stress Associated With Low Doses of Ionizing Radiation».

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

Дисертаційна робота базується на результатах аналізу значного обсягу експериментального матеріалу, отриманого з використанням сучасних біохімічних, молекулярно-біологічних, цитологічних і статистичних методів. Це дозволило оцінити основні показники оксидативно-нітративного стресу в

організмі щурів за дії поліфенольних комплексів. Викладення автором власних експериментальних даних логічно пов'язано із метою та завданнями дисертаційних досліджень, а також з інтерпретацією даних нових джерел літератури. Висновки віддзеркалюють фактичні дані, що були отримані дисертантом та основні положення дисертаційної роботи. Тому результати досліджень, представлені в дисертації Сабадашки М., їхній аналіз, основні положення і висновки достатньо обґрунтовані, а виявлені ефекти переконливі та статистично вірогідні.

3. Новизна основних наукових положень, сформульованих у дисертації

Одержані результати дисертаційної роботи розширюють уявлення про біохімічні механізми прояву негативних наслідків ураження малими дозами іонізуючого випромінювання та розширюють арсенал засобів, призначених для їхнього запобігання і усунення. У роботі доведено інгібуючий вплив концентрату природного поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина на процес розвитку радіоіндукованого оксидативно-нітративного стресу, що підтверджувалось зміною показників, які характеризують функціональний стан окремих систем організму – крові, імунної, серцево-судинної та видільної.

Вперше досліджено вплив загального одноразового опромінення у дозах 10 та 30 сГр на стан систем L-аргінін/NO та антиоксидантного захисту у периферичній крові, лейкоцитах, аорті та нирці щурів, що призводить до розбалансовування їх метаболічної активності та функціональної здатності.

Для корекції таких радіоіндукованих порушень дисертантом вперше використано концентрат ПК, методика виготовлення та стабілізації якого, була розроблена при виконанні роботи. Продемонстровано антиоксидантні властивості поліфенольного комплексу з червоного виноградного вина, виявлено його здатність запобігати надмірній модифікації протеїнів нітруванням за залишками тирозину в усіх досліджуваних тканинах.

Вперше встановлено, що споживання концентрату ПК попереджає виникнення радіоіндукованих порушень та запобігає розвитку оксидативно-нітративного стресу в імунокомпетентних клітинах, тканинах аорти та у корковому шарі нирки.

4. Науково-практична цінність роботи і шляхи застосування результатів досліджень

Результати досліджень мають як фундаментальне, так і прикладне значення. Вони розширюють і поглиблюють наукові відомості про унікальний природний поліфенольний комплекс, що міститься у червоному виноградному вині та здатний стимулювати функціонування ензимів системи антиоксидантного захисту, коригувати активність NOS, вміст нітритів і нітратів та впливати на вміст 3'-нітротирозин-модифікованих протеїнів. Одержані результати досліджень свідчать, що поліфенольні сполуки з виноградного вина є ефективними радіопротекторами, тому у перспективі необхідно вести пошук і розробку нових БАД, а в майбутньому –

фармакологічних препаратів на їхній основі, спрямованих на нормалізацію стану всього організму та попередження ускладнень, що виникають після дії малих доз іонізуючого випромінювання.

5. Повнота викладу основних наукових положень в опублікованих наукових працях

Наукові положення, що викладені в дисертації є новими, важливими для розвитку сучасної біохімії і пріоритетними для формування прикладних напрямів досліджень. Вони обґрунтовані експериментальними результатами досліджень, а достовірність забезпечена достатньою кількістю показників досліджень та належною статистичною обробкою даних. Результати досліджень знайшли відображення в 13 наукових працях, з яких 5 статей у фахових наукових журналах та 8 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, з'їздах і конгресах. Опубліковані роботи повністю висвітлюють отримані результати, положення і висновки дисертації.

Зміст автореферату ідентичний і повністю відповідає основним положенням дисертації.

6. Структура дисертації

Структура дисертації містить всі необхідні розділи: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список літературних джерел, які викладені на 160 сторінках.

У «Вступі» надається загальна характеристика дисертації, обґрунтована актуальність досліджуваної проблеми, що обумовлена недостатньою з'ясованістю механізмів оксидативно-нітративного стресу за впливу іонізуючого випромінювання та дією на ці процеси поліфенолів червоного виноградного вина. Особливість хімічної будови фенольних груп обумовлює здатність нейтралізувати електрон вільних радикалів і формувати відносно стабільні феноксильні радикали, що дозволяє віднести поліфеноли до нових потужних радіопротекторів, оскільки ці сполуки припиняють радіоіндуковані ланцюгові окиснювальні реакції у клітинах.

Наукова значимість роботи полягає саме в дослідженні механізмів дії поліфенолів на оксидативно-нітративний стрес, викликаний іонізуючим випромінюванням.

В «Огляді літератури» докладно подано різнобічний матеріал, який характеризує сучасний стан досліджень механізмів розвитку порушень в організмі за впливу іонізуючого випромінювання, зокрема систем L-аргінін/NO та антиоксидантної, процесів ПОЛ і нітрування протеїнів. Критичний аналіз наукової літератури дозволив дисертанту виділити основні напрямки подальших досліджень і підкреслити невирішені та спірні проблеми.

Розділ «Матеріали та методи досліджень» включає детальний опис схеми постановки експерименту та методів біохімічних досліджень.

Методи досліджень, що використані в роботі, є загальноприйнятими, сучасними і широко апробованими багатьма дослідниками. Це дозволило отримати достовірні результати і проводити коректний порівняльний аналіз власних і літературних даних.

Експериментальні дослідження проведено на безпородних білих щурах-самках масою 180–220 г., яких піддавали одноразовому опроміненню в дозах 10 та 30 сГр. У дослідженнях використовували різноплановий біологічний матеріал – периферична кров, лейкоцити, тканини аорти та корковий шар нирки. Це дало змогу ґрунтовно дослідити біохімічні механізми поліфенольних комплексів на показники, що характеризують оксидативно-нітративний стрес у різних системах організму.

Розділ «Результати досліджень» містять великий за обсягом експериментальний матеріал, що базується на широкому виборі показників, які характеризують оксидативно-нітративний стрес досліджуваних в динаміці (1-7 діб) і за різних доз опромінення (10 і 30 сГр).

Позитивної оцінки заслуговує цілком виправданий вибір значної кількості показників, які в сукупності достатньо повно і всебічно характеризують загальний стан організму тварин в умовах оксидативно-нітративного стресу, ефективність функціонування систем – крові, серцево-судинної та видільної.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» підсумовані і коротко виділені основні моменти та найбільш суттєві ефекти поліфенольних комплексів. Заслуговує позитивної оцінки намагання автора відповідати на поставлені питання із залученням власних даних та даних інших експериментаторів. Дисертант всесторонньо підійшла до обговорення отриманих результатів з використанням відомих з літератури фактів.

Висновки роботи є конкретними і безпосередньо впливають із отриманих Сабадашкою М. експериментальних даних. Зроблені висновки не тільки теоретично узагальнюють експериментальний матеріал та сучасні уявлення на стан проблеми, але вносять новий підхід до комплексного вивчення біохімічних процесів оксидативно-нітративного стресу в організмі тварин за впливу іонізуючого опромінення та дії на них поліфенолів червоного виноградного вина.

7. Зауваження

Суттєвих принципів зауважень до дисертаційної роботи М.В. Сабадашки немає, однак є окремі запитання, побажання і зауваження технічного характеру.

1. Чому не визначали окремо активності індуцибельної та конститутивної NO-синтази, а лише сумарну активність? Оскільки при аргументації отриманих результатів дисертант може лише передбачати імовірну зміну активності тієї чи іншої форми ізоензиму.

2. Оскільки динаміка досліджуваних показників вивчалась тільки впродовж випоювання поліфенольних комплексів та семи діб після опромінення, виникає запитання – які можливі особливості перебігу

оксидативно-нітративного стресу в організмі за умов післядії, зокрема до 14-18 діб, коли продовжуються біохімічні адаптаційні процеси в організмі на дію стрес-фактора? Чому термін для досліджень обрано саме 7 діб?

3. У дисертації зустрічаються технічні та граматичні помилки і неточності – сторінки 14, 21, 24, 25, 26, 28, 29, 35, 40, 41, 42, 48, 94, 95, 102, 104, 107, 108, 112, 118, 120, 124.

4. Як побажання можна рекомендувати дисертанту – розробити у найближчому часі рецепт БАДу з вмістом поліфенольних комплексів червоного виноградного вина з метою запобігання та корекцій патологій, що супроводжуються розвитком оксидативно-нітративного стресу, спричиненого впливом іонізуючого випромінювання.

7. Підсумовуючий висновок

Аналіз поданих для розгляду матеріалів (дисертація, автореферат, первинна документація та публікації), сформульованих основних положень і висновків дисертації, з врахуванням новизни, практичного значення і статистичної обґрунтованості отриманих результатів дозволяє дійти висновку, що дисертаційна робота Марії Сабадашки: «Дія концентрату поліфенольного комплексу з виноградного вина за радіоіндукованого оксидативно-нітративного стресу» є закінченим науковим дослідженням. Вона розкриває нові закономірності метаболічної дії поліфенолів червоного виноградного вина на розвиток оксидативно-нітративного стресу за впливу іонізуючого опромінення. Робота відповідає вимогам п.11 “Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року, які ставляться до кандидатських дисертацій, а її автор Сабадашка Марія Володимирівна заслуговує присудження їй наукового ступеня – кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – “біохімія”

Офіційний опонент:

заступник директора з наукової роботи,
завідувач лабораторії біохімії адаптації
та онтогенезу тварин
Інституту біології тварин НААН,
доктор біологічних наук, ст. н. с.

Р.Я. Іскра