

ВІДЗИВ

офіційного опонента

на дисертацію **Боднарчук Наталії Олександрівни «Зміни біофізичних та морфологічних параметрів зародків в'юна за дії флуренізиду»**,
представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

Актуальність теми. Постійний синтез нових хімічних сполук, які використовують у медицині та фармації, зокрема тих, що мають властивості антибіотиків, вимагає вивчення механізмів їх впливу на усіх рівнях організації живого. Серед таких сполук особливе місце посідає флуренізид (N-9-флуореніліден-N'-ізонікотиногідрозиду), ступінь токсичності й механізм впливу якого на клітину до кінця не з'ясовані. Антибіотику притаманні антимікробна, протитуберкульозна, антихламідійна, імуномодельююча, антиоксидантна, гепатопротекторна, протизапальна та протівірусна дії. Показники протівірусної дії флуренізиду, наприклад, щодо вірусу грипу птахів є вищими, порівняно з показниками для аміксіну – його найближчого аналога. Встановлена висока ефективність флуренізиду за різних форм туберкульозу, досліджена його дія на структурно-функціональні особливості клітин та ін. Хоча препарат вже впроваджено у виробництво, а отже, й у протоколи щодо лікування захворювань, залишаються невивченими механізми дії флуренізиду на мікроорганізми, клітини хазяїна, на вільнорадикальні і мембранозв'язані процеси клітин, що перебувають під довготривалою дією флуренізиду, залишається дискусійним вплив флуренізиду на функціонування біологічних об'єктів, особливо на ранньому етапі їх розвитку. Тому вивчення дії флуренізиду на прооксидантний стан як на класичний показник патологічних проявів, на стан антиоксидантної системи та мембранозв'язаних процесів, на інтенсивність вільнорадикальних процесів, його втручання у транспорт

основних потенціалгенеруючих іонів Na^+ та K^+ крізь плазматичну мембрану, що забезпечується Na^+, K^+ -АТФазою, є безперечно важливим для сучасної біофізики та медицини.

Виходячи з цього, актуальність дисертації Боднарчук Н.О. «Зміни біофізичних та морфологічних параметрів зародків в'юна за дії флуренізиду», виконаної на зародках в'юна як на моделі ізольованої клітини, не викликає сумнівів.

Ступінь обґрунтованості і достовірності положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх новизна.

Свідченням достатньої обґрунтованості та достовірності отриманих у дисертації результатів та зроблених висновків є високий методичний рівень роботи і вдале поєднання сучасних методичних підходів широкого діапазону. У розділі «Матеріали і методи» описано використані методи визначення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, ключових ензимів системи антиоксидантного захисту, Na^+, K^+ -АТФазної активності плазматичних мембран і Mg^{2+} -АТФазної активності мікосомальної фракції на різних етапах розвитку зародків в'юна, методи електронної трансмісійної мікроскопії та ін.

Перевірку нормальності вибірки здійснювали за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова з використанням пакету аналізу SPSS (Statistics 17). Статистичну обробку результатів досліджень проводили програмами Excel-2007 для Windows. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних обчислювали коефіцієнт Стюдента. Достовірною вважалась різниця за показника достовірності $p \geq 0,95$. За допомогою двофакторного дисперсійного аналізу розраховували частку флуренізиду, часу розвитку та неврахованих чинників на стан досліджуваних показників у зародках в'юна. Проводили кластерний аналіз для виявлення етапів розвитку, на яких є однакові зміни вмісту гідропероксидів ліпідів, ТБК-позитивних продуктів, активності СОД, КАТ, ГПО та ГТ, використовуючи пакет прикладних програм SPSS (Statistics 17).

Серед результатів дослідження автора дисертації слід відзначити найважливіші та ті, що мають пріоритетне значення. Уперше встановлені

особливості впливу флуоренізиду на стан прооксидантно-антиоксидантної та системи функціонування Na^+, K^+ -АТФази зародкових клітин в'юна *Misgurnus fossilis* L. Виявлено морфологічні й ультраструктурні зміни зародкових об'єктів на ранніх стадіях ембріогенезу. Уперше засвідчено, що за впливу флуоренізиду у високих концентраціях відбувається зниження вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації (ТБК-позитивних продуктів) на фоні підвищення кількості первинних продуктів (гідропероксидів; ГП), тоді як за дії нижчих концентрацій (0,01мМ-1мМ) відбувається перетворення первинних продуктів ПОЛ на вторинні. Вплив флуоренізиду призводить до зростання активності супероксиддисмутази на фоні зниження активності каталази і глутатіонпероксидази на всіх досліджуваних етапах ембріогенезу в'юна. Виявлено, що цей препарат у високих концентраціях зумовлює переважаюче спадання глутатіон-S-трансферазної (ГТ) активності на етапі розвитку зародків в'юна 256 та 1024 бластомерів. Встановлена здатність флуоренізиду пригнічувати активність Na^+, K^+ -АТФази зародків в'юна під час ембріогенезу, викликати структурні порушення у мітохондріях і в ендоплазматичній сітці, викликати зростання кількості лізосом у зародках в'юна.

Результати досліджень автора мають важливе значення для розуміння механізму біологічної дії флуоренізиду, можуть бути використані у формуванні нових нормативних документів, пов'язаних із фармакологією (наприклад, державної фармакопеї України). Експериментальні дані й теоретичні узагальнення дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка під час викладання нормативних дисциплін і дисциплін вільного вибору студентів.

Зауваження щодо дисертації та загальний висновок.

Проведені Н.О. Боднарчук експериментальні дослідження відповідають меті дисертаційної роботи, а отримані дані дозволяють вирішити поставлені у роботі завдання. Разом з тим, виникають деякі дискусійні запитання, відповіді на які сприятимуть глибшому розумінню отриманих автором даних.

1. У розділі 3.1 автор засвідчує, що «флуренізид у концентрації 15мМ... знижує інтенсивність процесів ПОЛ на усіх етапах розвитку зародків в'юна, що свідчить про сповільнення в них обмінних процесів». Чи дійсно можна судити про обмінні процеси лише за змінами процесів ПОЛ?

2. У розділі 3.2, описуючи активність Na^+, K^+ -АТФази, автор, на думку опонента, припускається помилок:

а) активність АТФази можна визначити лише у випадку виділення ферменту. Але ж автор вивчала АТФазну активність мембранних фракцій?

б) Чи потрібно так категорично пов'язувати зниження АТФазної активності з порушенням «трансмембранного потенціалу»? А де докази, що потенціал не змінюється за рахунок проникнення в мембрану антибіотика? Тим більше, що він існує в кето- і фенольній формах.

3. Описуючи структурні зміни зародкових клітин, автор наводить безліч фактів про різний вплив антибіотика на різних етапах розвитку зародка, у достовірність яких не вірити не можна. Але в чому ж механізм, в чому різниця таких порушень, якщо антибіотик однаково проникає в клітину, незалежно від етапу її поділу?

4. Проводячи дисперсійний і кластерний аналіз впливу флуренізиду, автор підкреслює «потужний вплив неврахованих факторів». Цікаво б знати, що це за фактори? Бо говорити, наприклад, про атмосферний тиск в цьому плані є недоречним – не так уже він різко змінювався в період експериментальних досліджень.

5. Що ж до назви роботи, то вона завелика у порівнянні з об'єктом і предметом досліджень. Та й не параметри вивчались, а процеси, стани, системи.

Вказані зауваження мають доброзичливий характер і не знижують високої оцінки дисертаційної роботи. Загальний її аналіз свідчить, що дисертація є самостійним і завершеним науковим дослідженням, у якому представлені переважно пріоритетні науково обгрутовані дані. Робота «Зміни біофізичних та морфологічних параметрів зародків в'юна за дії флуренізиду» за актуальністю, методичними підходами, об'ємом і новизною та практичною

цінністю отриманих результатів відповідає п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою КМУ № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р.) до кандидатських дисертацій, а її автор Боднарчук Наталія Олександрівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Офіційний опонент

провідний інженер
Київського національного
університету імені Тараса
Шевченка

д. б. н., професор
В.К. Рибальченко,
Заслужений діяч науки і техніки
України



A handwritten signature in blue ink, consisting of a few loops and a horizontal line at the end.