

## **ВІДГУК**

### **офіційного опонента**

доктора медичних наук, професора

**САВИЦЬКОГО ІВАНА ВОЛОДИМИРОВИЧА**

на дисертаційну роботу ГРОМАДЧЕНКО АНАСТАСІЇ ОЛЕКСАНДРІВНИ

на тему: «Патофізіологічні механізми функціональних і структурно-  
метаболических порушень сполучної тканини у нащадків опромінених тварин»,

подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду ДФ41.600.065 на  
здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за  
спеціальністю 222 – Медицина

### **Актуальність теми дисертації**

Актуальність дисертаційної роботи Громадченко Анастасії Олександрівни зумовлена високою медико-біологічною, соціальною та радіобіологічною значущістю проблеми віддалених і міжпоколінних наслідків дії іонізуючого випромінювання. У сучасних умовах питання радіаційної безпеки, біомоніторингу осіб, які зазнали впливу іонізуючої радіації, а також оцінки ризиків для їхнього потомства залишаються надзвичайно важливими для патофізіології, радіобіології, екологічної медицини, медицини катастроф і громадського здоров'я.

Іонізуюче випромінювання реалізує біологічну дію не лише через пряме ушкодження ДНК, мембранних структур і білкових комплексів, але й через індукцію оксидативного стресу, порушення цитокінової регуляції, зміну ферментативної активності та перебудову позаклітинного матриксу. Особливого значення набуває сполучна тканина, яка виконує не тільки опорну й трофічну функції, але й бере участь у регуляції тканинної відповіді на ушкодження, формуванні фіброзу, підтриманні механічної цілісності органів та адаптації до стресових впливів.

Недостатньо вивченими залишаються ранні патофізіологічні механізми, за допомогою яких опромінення батьківського організму може відобразитися

у зміненому структурно-метаболичному стані сполучної тканини потомства. Саме ця ланка є принципово важливою, оскільки ранні порушення колагенового обміну, глікозаміногліканової підсистеми, гіалуронатного метаболізму та колагенолітичної активності можуть передувати клінічно очевидним фіброзно-дистрофічним змінам. Тому ідентифікація дозочутливих біомаркерів матриксного ремоделювання у нащадків опромінених тварин має не лише фундаментальне значення, але й формує підґрунтя для майбутніх програм раннього прогнозування, профілактики та персоналізованого біомоніторингу.

З огляду на викладене, тема дисертації є актуальною, своєчасною та відповідає сучасним напрямам експериментальної медицини, патологічної фізіології та радіобіології. Робота спрямована на вирішення важливого наукового завдання, що полягає у встановленні дозозалежних механізмів постпроменевого зрушень у колагеновій та глікозаміноглікановій підсистемах екстрацелюлярного матриксу у потомства статевозрілих щурів, опромінених різними дозами.

### **Зв'язок дисертаційної роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та хімії Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України на тему «Механізми епігенетичних порушень провідних ланок біоенергетики та азотистого обміну в опромінених тварин та їх нащадків» (номер державної реєстрації 0121U114601).

Здобувачка виконувала дисертаційне дослідження в межах зазначеної науково-дослідної теми. Напрямок роботи повністю узгоджується з її змістом, оскільки дослідження міжпоколінних наслідків опромінення, метаболичного ремоделювання тканин та ранніх патофізіологічних маркерів ушкодження є складовою сучасного вивчення пострадіаційних ефектів.

## **Новизна дослідження та одержаних результатів**

Наукова новизна дисертаційної роботи є достатньо вагомою та полягає у комплексному дозо- й органоспецифічному аналізі структурно-метаболических порушень сполучної тканини у нащадків тварин, які зазнали тотального  $\gamma$ -опромінення у дозах 1,0, 3,0 та 5,82 Гр.

У роботі вперше здійснено інтегральне профілювання стану екстрацелюлярного матриксу у потомства опромінених тварин з одночасним дослідженням системних і тканинних показників. Такий підхід дозволив не обмежуватися ізольованою оцінкою одного маркера, а сформуванати цілісне уявлення про взаємозв'язки між колагеногенезом, колагенолізом, глікозаміноглікановою підсистемою, метаболізмом гіалуронової кислоти та забезпеченістю аскорбіновою кислотою.

Вперше показано дозозалежне формування гіалуронат-насиченого фенотипу матриксу у нащадків опромінених тварин, що проявлялося змінами співвідношення активності гіалуронатсинтази та гіалуронідази, зростанням частки гіалуронової кислоти у складі глікозаміногліканів і зв'язком цих процесів із підвищенням колагенолітичної активності.

Суттєвим науковим результатом є встановлення органоспецифічної неоднорідності постпроменевого ремоделювання. У легенях нащадків виявлено тенденцію до втрати стабільного нерозчинного колагенового пулу на тлі зростання розчинних фракцій і посилення колагенолізу, що може розглядатися як ознака зниження структурної міцності матриксу. У шкірі, навпаки, простежується збільшення нерозчинного колагену при одночасному підвищенні колагенолітичної активності, що свідчить про ранній фіброгенний зсув і напруження процесів ремоделювання.

Важливим положенням наукової новизни є обґрунтування ролі аскорбінової кислоти як лімітуючого чинника дозрівання колагену у потомства опромінених батьків. Здобувачкою показано, що зниження співвідношення аскорбінової кислоти до оксипроліну може мати прогностичне значення для

оцінки неповноцінного дозрівання колагенових фібрил, накопичення розчинних колагенових фракцій і активації протеолітичних процесів.

Науково обґрунтованим є також інтегрування показників фертильності, життєздатності та радіорезистентності потомства з матриксними біомаркерами. Завдяки цьому авторка не лише описала окремі біохімічні зміни, а й запропонувала патофізіологічну модель міжпоколінного впливу іонізуючого випромінювання, у якій порушення позаклітинного матриксу розглядається як одна з ключових ланок зниження адаптаційного резерву тканин.

### **Теоретичне та практичне значення результатів дослідження**

Практичне значення дисертації полягає у можливості використання отриманих результатів для формування підходів до раннього біомоніторингу міжпоколінних радіаційних ефектів. Запропоновані авторкою показники, зокрема фракційний склад оксипроліну, індекс пептиднозв'язаного до вільного оксипроліну, співвідношення аскорбінової кислоти до оксипроліну, співвідношення гіалуронової кислоти до глікозаміногліканів, індекс гіалуронатсинтаза/гіалуронідаза та питома характеристика металозалежної й металонезалежної колагенолітичної активності, можуть бути використані як інформативна панель для оцінки ранніх порушень матриксного гомеостазу.

Отримані результати мають значення для подальшого розвитку експериментальної радіобіології, патологічної фізіології сполучної тканини та профілактичної медицини. Вони дають змогу виділити найбільш чутливі ланки постпроменевого ремоделювання, визначити тканинно-специфічні особливості відповіді та окреслити напрями майбутньої патогенетично обґрунтованої корекції.

Результати роботи можуть бути використані у навчальному процесі на кафедрах патологічної фізіології, медичної біології, біохімії, радіобіології, екологічної медицини та експериментальної патології. Особливо цінним є формування референтних профілів показників сполучної тканини для

1-місячних щурят, що може бути застосовано у подальших експериментальних роботах як порівняльна база для дослідження постнатальних і міжпоколінних ефектів ушкоджувальних чинників.

Результати дослідження впроваджені в навчальну роботу кафедри загальної і клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету; кафедр патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Буковинського державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Полтавського державного медичного університету; кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету; кафедри анатомії, фізіології та патології ВПНЗ «Львівський медичний університет».

Широта впровадження підтверджує навчально-методичну цінність отриманих результатів і засвідчує, що матеріали дисертації можуть бути використані для поглиблення підготовки здобувачів вищої медичної освіти з питань патофізіології променевого ушкодження, міжпоколінних ефектів і ремоделювання сполучної тканини.

### **Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації**

Ступінь обґрунтованості результатів дисертаційної роботи є достатнім і відповідає вимогам до експериментальних досліджень у галузі медицини. Мета дослідження сформульована чітко, завдання логічно впливають із поставленої мети й охоплюють основні ланки колагенового та глікозаміногліканового обміну, ферментативного ремоделювання матриксу, а

також функціональні показники, пов'язані з фертильністю та радіорезистентністю потомства.

Експериментальна частина виконана на достатньому матеріалі. У дослідженні використано 120 статевозрілих білих щурів лінії Вістар та 190 їхніх нащадків віком один місяць. Дизайн передбачав порівняння інтактних тварин, статевозрілих тварин після тотального  $\gamma$ -опромінення у дозах 1,0, 3,0 та 5,82 Гр, а також потомства, отриманого від відповідних груп батьків. Така побудова дослідження дозволила простежити як безпосередні постпроменеві зміни у статевозрілих тварин, так і міжпоколінні ефекти у нащадків.

Методи дослідження відповідають меті та завданням роботи. Авторкою використано експериментальні, патофізіологічні, радіобіологічні, біохімічні та статистичні методи. Визначення загального, вільного, пептиднозв'язаного та білковозв'язаного оксипроліну, розчинного й нерозчинного колагену, глікозаміногліканів, гіалуронової кислоти, активності гіалуронідази, гіалуронатсинтази, колагенолітичної активності та аскорбінової кислоти створює достатньо повну картину стану екстрацелюлярного матриксу.

Статистична обробка результатів проведена із застосуванням програмного пакета SPSS. Використання критерію Шапіро-Уїлка для перевірки характеру розподілу, кореляційного аналізу Пірсона, оцінки

$p$ -значень і довірчих інтервалів підвищує достовірність інтерпретації отриманих даних. Представлені висновки узгоджуються з поставленими завданнями, ґрунтуються на результатах власних експериментальних досліджень і мають логічний зв'язок із матеріалами розділів дисертації.

Науковий рівень дисертаційного дослідження є високим. За матеріалами роботи опубліковано 12 наукових праць, з яких 10 є одноосібними. Серед них 4 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, у тому числі 1 стаття у виданні, що індексується у Scopus, а також 8 тез доповідей на науково-практичних конференціях і конгресі за фахом дисертаційної роботи. Публікаційна активність здобувачки достатньо повно відображає основні положення дисертації та свідчить про належну апробацію результатів.

Дисертаційна робота виконана з дотриманням біоетичних вимог щодо використання лабораторних тварин. Опис умов утримання, методики опромінення, отримання біологічного матеріалу та евтаназії тварин є достатнім для оцінки коректності експериментального підходу.

### **Структура та оцінка змісту дисертації**

Дисертація викладена на 206 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій українською та англійською мовами, списку опублікованих праць за темою дисертації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, двох розділів власних експериментальних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел і додатків. Список використаних джерел містить 217 найменувань, з яких 176 англійські, що свідчить про достатнє опрацювання сучасної міжнародної літератури.

У вступі обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, наведено методи, наукову новизну, практичне значення та дані щодо апробації й публікацій. Мета дослідження відповідає темі дисертації, а завдання охоплюють ключові напрями вивчення колагенового, глікозаміногліканового та ферментативного ремоделювання екстрацелюлярного матриксу.

Розділ 1 присвячений аналізу сучасної наукової літератури щодо будови й функціонування сполучної тканини, патогенетичних механізмів дії різних доз іонізуючого випромінювання та ролі фізіологічної системи сполучної тканини за умов радіаційного впливу. Огляд літератури є змістовним, логічно підводить до формулювання наукової проблеми та демонструє обізнаність авторки з сучасними уявленнями про радіаційно-індуковане ремоделювання матриксу.

У розділі 2 представлено матеріали і методи дослідження, наведено експериментальний розподіл лабораторних тварин, описано біоетичні, правові та метрологічні аспекти, методику отримання потомства, методику

опромінення, способи отримання експериментального матеріалу, а також біохімічні й статистичні методи. Розділ є важливим для оцінки відтворюваності дослідження і загалом достатньо повно характеризує експериментальний дизайн.

Розділ 3 містить результати дослідження механізмів функціональних і структурно-метаболических порушень сполучної тканини у статевозрілих тварин, які були піддані тотальному  $\gamma$ -опроміненню. Авторкою проаналізовано показники фертильності інтактних і опромінених тварин, охарактеризовано особливості метаболізму сполучної тканини в інтактному контролі та розглянуто дозозалежні зміни після опромінення у дозах 1,0, 3,0 і 5,82 Гр. Цей розділ створює необхідну базу для подальшого порівняння з показниками потомства.

Розділ 4 присвячений аналізу функціональних і структурно-метаболических порушень сполучної тканини у нащадків, народжених від тварин, які були піддані тотальному  $\gamma$ -опроміненню. Особливої уваги заслуговує зіставлення радіорезистентності нащадків, показників колагенового обміну, вмісту глікозаміногліканів і гіалуронової кислоти, активності гіалуронатсинтази, гіалуронідази та колагенолітичної активності у легенях, шкірі та біологічних рідинах. Розділ безпосередньо розкриває основний зміст дисертації та підтверджує наявність дозозалежних міжпоколінних ефектів.

Розділ 5 містить аналіз та узагальнення результатів дослідження. У ньому авторка інтегрує отримані дані у загальну патофізіологічну модель постпроменевого ремоделювання екстрацелюлярного матриксу, обґрунтовує роль солюбілізації колагену, аскорбатного дефіциту, гіалуронат-детермінованої гідратації матриксу та дисбалансу колагенолітичних процесів у формуванні зниженого запасу міцності сполучної тканини.

Висновки дисертації відповідають поставленим завданням, відображають основні результати роботи та мають належний рівень узагальнення. Додатки містять перелік публікацій, відомості про апробацію результатів дисертації та акти впровадження.

Дисертаційна робота є завершеною науковою працею, має чітку структуру, логічну послідовність викладення матеріалу та достатній рівень наукової аргументації.

### **Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності в дисертаційній роботі**

За результатами ознайомлення з дисертаційною роботою можна зробити висновок, що вона виконана з дотриманням принципів академічної доброчесності. Представлені результати є результатами власних експериментальних досліджень здобувачки. Використані ідеї, положення та дані інших авторів супроводжуються посиланнями на відповідні джерела. Ознак академічного плагіату, фабрикації або фальсифікації результатів у роботі не виявлено.

### **Завершеність дисертаційної роботи та зауваження щодо її змісту та оформлення**

Дисертація справляє позитивне враження, однак, як і будь-яке комплексне експериментальне дослідження, має окремі положення, що можуть бути предметом наукової дискусії.

1. У роботі наведено значний масив цифрового матеріалу, що є безперечною перевагою дослідження. Водночас частину великих таблиць доцільно було б доповнити інтегральними рисунками або схемами, які наочно демонстрували б дозозалежний перехід від адаптивного до деструктивного ремоделювання матриксу.
2. У дисертації обґрунтовано значення ранніх дозочутливих маркерів ремоделювання, однак перспективи їхньої трансляції у клінічний або популяційний біомоніторинг могли б бути деталізовані ширше, зокрема щодо пріоритетності показників, доступності методів і можливих порогових значень ризику.

3. У тексті трапляються окремі стилістичні повтори та незначні редакційні недоліки, що не впливають на зміст роботи й не знижують її наукової цінності.

Зазначені зауваження мають рекомендаційний характер і не зменшують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

У межах дискусії хотілося б одержати відповіді на наступні запитання:

1. Які з досліджених показників, на думку здобувачки, мають найбільшу прогностичну цінність для раннього біомоніторингу міжпоколінних радіаційних ефектів: фракційний склад оксипроліну, індекс АА/ОП, співвідношення НАS/НУАL, співвідношення ГУК/ГАГ чи показники колагенолітичної активності?
2. Яким чином можна експериментально розмежувати внесок безпосереднього постпроменевого ушкодження батьківського організму та епігенетично опосередкованих механізмів у формування структурно-метаболічних порушень сполучної тканини у потомства?
3. Чим, на думку авторки, пояснюється різноспрямованість змін колагенового пулу в легенях і шкірі нащадків опромінених тварин, зокрема втрата нерозчинного колагену в легенях і його збільшення у шкірі?
4. Які патогенетично обґрунтовані напрями профілактики або корекції постпроменевого ремоделювання екстрацелюлярного матриксу у потомства можуть бути найбільш перспективними з урахуванням отриманих результатів?

#### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Громадченко Анастасії Олександрівни «Патофізіологічні механізми функціональних і структурно-метаболічних порушень сполучної тканини у нащадків опромінених тварин», що виконана під керівництвом доктора медичних наук, професора Степанова Геннадія Федоровича, є завершеною самостійною науковою працею, у якій наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення актуального наукового

завдання патологічної фізіології, а саме встановлення додозалежних механізмів раннього постпроменевого ремоделювання екстрацелюлярного матриксу у нащадків опромінених тварин.

Робота має належний науково-методичний рівень, характеризується актуальністю, науковою новизною, достатнім обсягом експериментального матеріалу, обґрунтованістю висновків і практичною значущістю отриманих результатів. Основні положення дисертації опубліковані у фахових наукових виданнях та апробовані на науково-практичних конференціях.

Дисертація оформлена згідно з вимогами, затвердженими наказом МОН України від 12.01.2017 р № 40.

За актуальністю теми, обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, ступенем обґрунтованості основних положень і висновків дисертаційна робота повністю відповідає чинним вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, а її авторка, Громадченко Анастасія Олександрівна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» зі спеціальності 222 «Медицина».

### Офіційний опонент

ректор ПВНЗ «Міжнародна академія екології та медицини»,  
доктор медичних наук, професор

Іван САВИЦЬКИЙ

Підпис професора І.В. Савицького заступник  
Вчений секретар Міжнародної академії  
екології та медицини, доцент



Алла ВІЦЮК