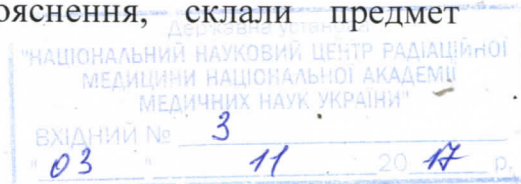


ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Гапеєнко Дар'ї Дмитрівни «Особливості біологічних ефектів за умов поєднаного впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів у клітинах *in vitro*», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 – радіобіологія

Забруднення навколишнього середовища фізичними та хімічними чинниками порушує рівновагу екологічних систем. Сукупна дія фізичних та хімічних агентів природного та антропогенного походження, а також біологічних та соціальних факторів на організм людини є реальністю сучасного світу. Живі організми постійно підпадають під багатфакторний вплив. Ця проблема набула особливої актуальності у зв'язку з підвищенням антропогенного фону іонізуючих випромінювань внаслідок випробувань ядерної зброї, радіаційних аварій на об'єктах ядерної енергетики, експлуатації атомних електростанцій і накопичення радіоактивних відходів. Значні дозові навантаження можуть бути зумовлені також медичним застосуванням іонізуючих випромінювань, пов'язаних із діагностикою та променевою терапією. Проблема забруднення оточуючого середовища загострюється також інтенсифікацією виробництва нових хімічних сполук, харчових добавок, синтетичних ліків та добрив. Зазначені фактори можуть зустрічатись в комбінації або діяти окремо і тим самим змінювати мутагенну і/або канцерогенну дію іонізуючих випромінювань та інших факторів оточуючого середовища. Однак на сьогоднішній день характер біологічних ефектів від сумісної дії декількох чинників вивчено недостатньо. Важливим є дослідження закономірностей впливу випромінювання в умовах сумісної дії з важкими металами на клітинному рівні, саме тут започатковуються порушення, які пізніше проявляються у вигляді різноманітних патологічних станів на рівні організму.

Отже, низка важливих і актуальних проблем, які є недостатньо вирішеними і не мають однозначного пояснення, склали предмет



представлених у дисертаційній роботі досліджень. Дисертаційна робота Гапеєнко Д.Д. присвячена актуальним проблемам радіобіології, а саме дослідженню особливостей біологічних ефектів окремого та поєданого впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів у клітинах *in vitro*. В цьому контексті варто відмітити наукову значимість і практичну направленість представленої роботи.

Дисертаційна робота є традиційною за структурою і складається зі вступу, розділів огляду літератури, об'єкта та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, списку цитованих першоджерел. Робота викладена на 145 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 46 рисунками та 13 таблицями. Список літературних джерел включає 154 посилання.

У вступі надана повна характеристика роботи: обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету та задачі, відображено зв'язок роботи з науковими програмами; охарактеризовано наукову новизну та практичну цінність дисертації, відомості стосовно особистого внеску дисертантки, апробації результатів, публікації.

Розділ «Огляд літератури» складається з п'яти підрозділів, в яких наведена наукова інформація щодо окремої та поєданої дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів на біологічні об'єкти, особлива увага приділяється змінам ферментів енергетичного обмін у мітохондріях та апоптозу. В цілому розділ розкриває суть проблеми та обґрунтовує необхідність проведення власних досліджень.

У розділі «Об'єкт та методи досліджень» надано вичерпну інформацію щодо характеристики об'єкту досліджень. Детально описано комплекс методів, що використовувались в роботі. Це дає повне уявлення про суть проведеного дослідження, план спостережень та адекватність статистичних методів обробки експериментальних даних. Використані методи досліджень відповідають поставленим задачам.

У розділах 3-5 представлено результати власних комплексних досліджень, де наведено великий масив експериментальних даних стосовно окремої та поєднаної дії радіації та важких металів.

Розділ 3 присвячений дослідженню цитоморфологічних ефектів у клітинах лінії L₉₂₉ *in vitro* за дії іонізуючого випромінювання (ІВ). В цьому розділі детально описана кінетика проліферативної активності, зміни в структурі популяції клітин лінії L₉₂₉, що відбуваються за дії радіації у дозовому діапазоні 0,5-10,0 Гр. Наведено експериментальні дані стосовно особливостей змін активності мітохондріальних ферментів енергообміну у культурі за різних доз опромінення.

У **розділі 4** представлено дані щодо біологічних ефектів у клітинах лінії L₉₂₉ в умовах впливу іонів важких металів (ВМ) у різних концентраціях. Аналіз концентраційних залежностей виявив особливості змін показників життєздатності клітин, рівня апоптичних клітин. Здійснено порівняльний аналіз змін активності ферментів сукцинатдегідрогенази та α -гліцерофосфатдегідрогенази при культивуванні клітин з іонами міді та нікелю в діапазоні концентрацій 0,01-10,0 мкМ/л.

У **розділі 5** представлено експериментальні дані щодо показників життєздатності клітин *in vitro* за умов поєднаного впливу ІВ у різних дозах та іонів ВМ (мідь або нікель) за різних концентрацій. Виявлено, що сумісна дія ІВ у малій та сублетальних дозах за різних концентрацій ВМ справляла полімодальний ефект на морфофункціональні властивості клітин лінії L₉₂₉, а також призводила в основному до підвищення активності мітохондріальних ферментів, що може свідчити про компенсаторні ефекти в системі енергообміну клітин.

Позитивної оцінки заслуговує вибір для експериментальних досліджень великої кількості показників, які в сукупності детально характеризують особливості змін в клітинах *in vitro* за умов поєднаного впливу ІВ у широкому діапазоні доз та концентрацій іонів ВМ (мідь або нікель).

Дисертантом одержано великий масив унікальних даних, що суттєво доповнюють існуючі уявлення щодо формування біологічних ефектів за умов поєднаної дії ІВ та ВМ у клітинах *in vitro*, мають фундаментальне значення та можуть бути перспективними в ґрунтовній оцінці шкідливого впливу ІВ та ВМ на біологічні об'єкти.

Загалом дисертаційна робота Д.Д. Гапєєнко справляє позитивне враження завершеної кваліфікаційної наукової праці, в якій представлені нові науково важливі результати, що розширюють уявлення щодо формування біологічних ефектів поєданого впливу ІВ та іонів ВМ на клітинному рівні. Внаслідок виконання роботи було вперше отримано експериментальні результати щодо порушення енергетичних процесів у клітинах за поєднаної дії ІВ та іонів ВМ. Висновки обґрунтовані великим масивом результатів власних експериментальних досліджень. Основні результати дисертаційної роботи висвітлено в 18 наукових працях та апробовано на багатьох наукових форумах.

Автореферат відповідає змісту дисертаційної роботи, а мета, завдання та висновки є ідентичними.

Внаслідок аналізу дисертаційної роботи в цілому, виникли окремі побажання та дискусійні питання:

- Зауваження до оформлення дисертаційної роботи включають поодинокі повтори, описки в тексті. Не завжди при викладенні матеріалу використовуються умовні позначення, наприклад у назві ферментів. Іноді в тексті дисертаційної роботи зустрічаються дані літератури без посилань на першоджерела (наприклад с.17, 41, 44, 70-71, 116 та ін.).
- У завдання роботи бажано було б включити пункти щодо дослідження активності ферментів за окремої дії ІВ та ВМ, результати яких представлено в розділах 3.3 та 4.3. Це свідчить про значно більший обсяг виконаних робіт, ніж було заплановано.

- В розділі 2.2 «Матеріали та методи» не наведено загальної кількості проаналізованих препаратів та кількості проаналізованих препаратів/клітин на експериментальну точку.
- У дисертаційній роботі слід було б навести дані для клітин лінії L₉₂₉ щодо LD₅₀ за дії опромінення, а також EC₅₀ для ацетату міді та нікелю (Cu(CH₃COO)₂, Ni(CH₃COO)₂), що є загально прийнятими критеріями в оцінці життєздатності клітин та токсичної дії хімічних агентів.
- У розділі 4 « Біологічні ефекти у клітинах *in vitro* при дії іонів важких металів» немає висновку.
- Представлення матеріалу в розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» логічно проводити у порядку відповідно до розділів власних досліджень. На мою думку, у цьому розділі мало уваги приділяється ґрунтовному комплексному аналізу дослідних показників та їх взаємозв'язку; поясненню спостерігаємих біологічних ефектів.
- Для ґрунтового комплексного аналізу експериментальних результатів досліджень поєднаного впливу ІВ та іонів ВМ слід було б проводити більш широке порівняння одержаних даних. Зокрема, доречно було б провести порівняння ефектів поєднаної дії не тільки з контролем та за дії радіації, а також з окремою дією іонів міді/нікелю в різних концентраціях. Це надало б автору можливість виокремити вклад кожного чинника у формування загального біологічного ефекту. Дисертантці на офіційному захисті слід детальніше розкрити питання щодо особливості формування біологічних ефектів за поєднаної дії ІВ та ВМ у порівнянні з окремою дією (вказати вклад кожного з чинників у загальний ефект).
- Незрозуміло, чому аналіз експериментальних результатів щодо активності мітохондріальних ферментів енергообміну та апоптозу в клітинах за поєднаного впливу ІВ у різних дозах та ВМ у різних концентраціях проводиться тільки відносно контролю, на відміну від інших досліджуваних показників, де аналізуються зміни за дії

радіаційного чинника (див. відповідні таблиці).

- На мою думку, автору в дисертації бажано було б використовувати загально вживані терміни для опису особливостей сумісної дії різних чинників, а саме: синергізм, антагонізм, адитивність або потенціювання.
- Висновки роботи великі за об'ємом, занадто деталізовані, переобтяжені описом фактичних даних та не відображають у повній мірі узагальнень щодо досліджених біологічних ефектів, що ускладнює їх сприйняття та осмислення. Висновки містять технічні помилки, на зразок: «істотно зменшувалась (в 1-3,2 рази)» у висновку 2; «істотно знижувалась (більше, ніж у 1,06 рази)» у висновку 5. Проте слід зазначити, що дисертантом проведено широкомасштабні дослідження, отримано величезний масив експериментальних даних, що, вочевидь, складно лаконічно представити в 6 висновках.
- Список використаних джерел містить мало публікацій за останні 5 років.
- Як Ви можете пояснити статистично вірогідне зниження кількості клітин щодо контролю та збільшення мітотичної активності клітин у 1,2 – 2,5 рази (висновок 2)?
- На Вашу думку, чим обумовлено встановлений в роботі радіозахисний ефект іонів нікелю за опромінення клітин в дозі 10,0 Гр? (висновок 3)?
- Чим обумовлено зниження індексу полікаріоцитів за умови поєданого впливу іонів міді та ІВ у дозах 0,5 та 5,0 Гр у порівнянні з окремою дією міді?

Слід відмітити, що зазначені зауваження не знижують наукову та практичну значимість роботи, оскільки дисертація містить результати оригінальних, широкомасштабних та трудомістких експериментальних досліджень, що можуть бути основою для подальшого поглибленого вивчення сумісних біологічних ефектів ІВ та ВМ.

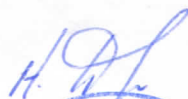
Таким чином, враховуючи актуальність дослідження, наукову новизну та практичну значущість отриманих результатів, апробацію у відкритому друці та наукових збірниках, адекватність методичних засобів поставленим завданням, обґрунтованість висновків, вважаю, що дисертація Гапеєнко Дар'ї Дмитрівни «Особливості біологічних ефектів за умов поєднаного впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів у клітинах *in vitro*» є такою, що відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (зі змінами), а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 – радіобіологія.

Офіційний опонент
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник,
завідувач відділу радіобіології та радіоекології
Інституту ядерних досліджень НАН України



А.І. Липська

Підпис засвідчую,
Вчений секретар
Інституту ядерних досліджень НАН України



Н.Л. Дорошко

