

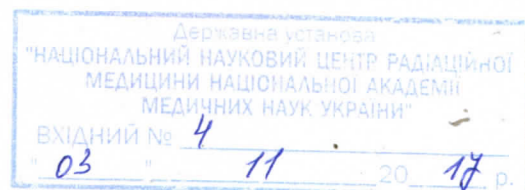
ВІДГУК

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

Актуальність теми. Дисертаційна робота Д.Д. Гапеєнко присвячена нагальним проблемам радіобіології, яка полягає у комплексному дослідженні поєданого впливу фізичних та хімічних факторів на життєздатність клітин *in vitro* та їх радіочутливість. Сучасна екологічна ситуація характеризується постійним зростанням забруднення оточуючого середовища різними антропогенними чинниками. Фізичні фактори впливають на всі компоненти природного середовища, через використання радіоактивних речовин та джерел іонізуючого випромінювання в різних галузях промисловості, медицині та науці. Чільне місце серед хімічних факторів слід віднести викидам та відходам підприємств, у яких дуже часто присутні важкі метали та їх сполуки. Через це зростає ймовірність одночасного впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів на біологічні об'єкти.

Поєднана дія їх може характеризуватись як підсиленням (ефект синергізму) так і послабленням (антагонізм) негативного впливу, або ж простим сумуванням ефектів (адитивність). Це важливий напрямок досліджень сучасної теоретичної радіобіології, що вивчає механізми радіочутливості та проблеми відновлення радіогенних ушкоджень. Саме цим актуальним питанням присвячена дисертаційна робота Гапеєнко Д.Д.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота виконана відповідно до планів наукових досліджень лабораторії клітинної радіобіології Інституту експериментальної



радіології ДУ «ННЦРМ НАМН України» за темами: «Визначення клітинних ефектів комбінованого впливу важких металів, іонізуючого та неіонізуючого випромінювань і можливість корекції їх полімінеральними речовинами природного походження» (2010 – 2012 рр., № держреєстрації 0110U000237), «Вплив нейтронозахватних агентів із фотосенсибілізуючими властивостями на клітини *in vitro* за умов дії світлового та іонізуючого випромінювань» (2013 – 2015 рр., № держреєстрації 0101U000917).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації.

Оформлення дисертаційної роботи відповідає вимогам Постанови КМ №656 від 19.08.2015, написана за класичним зразком і викладена на 145 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 46 рисунками та 13 таблицями. Вона складається із вступу, основної частини (огляд літератури, матеріали і методи досліджень, три розділи власних досліджень, узагальнення та аналіз одержаних результатів), висновків. Список використаних джерел складається з 154 посилань (124 кирилицею, 30 латиницею).

У *вступі* обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету, задачі і з'ясовано зв'язок роботи з науковими програмами; охарактеризовано основні положення дисертації, її практичну цінність, відомості стосовно особистого внеску дисертантки, апробації результатів, публікації.

В першому розділі «*Огляд літератури*» дисертантка всебічно розглядає біологічні ефекти в клітинах за умов дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів. При цьому особлива увага зосереджена на формуванні ефектів за умов поєднаної дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів. Наведені сучасні досягнення в цьому напрямку. В матеріалах огляду літератури були також наведені основні характеристики таких металів: міді й нікелю, які включені дисертантом у програму наукових досліджень. Наведені дані їх фізіологічного й біохімічного значення в організмі людини, показано джерела й

шляхи їх надходження до людини, розподіл в організмі та механізми токсичної дії в разі перевищення гранично-допустимої кількості їх денної потреби. Огляд демонструє ерудицію Дар'ї Дмитрівни, її здатність критично аналізувати дані попередників, визначати нагальні проблеми та планувати шляхи їх вирішення. Цей розділ є обґрунтуванням необхідності власних досліджень дисертантки.

В другому розділі «*Матеріали та методи дослідження*» дає уявлення про обсяг і суть проведеного дослідження, об'єкт дослідження, та методи, застосовані в роботі.

В роботі використані такі методи дослідження: культуральні (культивування перещеплюваних клітин лінії L₉₂₉); методи опромінення клітин іонізуючим випромінюванням; цитологічні (отримання та аналіз препаратів морфофункціональних змін в культурі клітин при дії різних чинників); цитохімічні (оцінка активності мітохондріальних ферментів); біофізичні (оцінка апоптозу в культурі клітин за допомогою протокового цитофлюориметра); статистичні.

Об'єктом дослідження за поєднаної дії γ -опромінення та іонів важких металів було вибрано радіобіологічні ефекти у клітинах лінії L₉₂₉ *in vitro*. Визначались такі показники: кількість клітин, мітотичний індекс, індекс полікаріоцитів, апоптоз та активність мітохондріальних ферментів сукцинатдегідрогенази (СДГ) та α -гліцерофасфатдегідрогенази (α -ГФДГ).

З важких металів у програму досліджень були включені мідь і нікель, які відносяться до біогенних хімічних елементів, постійно присутніх в організмі людини (мідь – абсолютно необхідний мікроелемент, а нікель – вірогідно необхідний мікроелемент), при чому ці мікроелементи в разі перевищення кількості фізіологічної потреби можуть викликати токсикологічну дію. Дози гама-опромінення культур взято в розмірах 0,5; 5,0 та 10,0 Гр.

У третьому розділі «*Біологічні ефекти у клітинах in vitro при дії іонізуючого випромінювання*» (власні дослідження) встановлено вплив

іонізуючого випромінювання в дозах 0,5; 5,0 та 10,0 Гр на життєздатність клітин (щільність клітинної популяції, мітотична активність, індекс полікаріоцитів, апоптоз та активність ферментів енергообміну в мітохондіях)

В четвертому розділі *«Біологічні ефекти у клітинах in vitro при дії іонів важких металів (міді й нікелю)»* (власні дослідження) наведені фактичні данні морфофункціональних змін в культурі клітин лінії L₉₂₉ при дії іонів міді та нікелю в різних концентраціях (0,01; 0,10; 1,00 та 10,00 мкМ/л).

У п'ятому розділі *«Морфофункціональні характеристики клітин за умов поєднаного впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів»* (власні дослідження) автор описує стан опромінених клітин у різних дозах при додаванні іонів міді або нікелю в різних концентраціях. Проведена оцінка активності СДГ та α -ГФДГ у культурі клітин лінії L₉₂₉ за дії фізичного та хімічного факторів.

Розділ *«Узагальнення результатів. Порівняльний аналіз»* демонструє наукову зрілість знань дисертанта, оскільки проведено критичний аналіз отриманих даних в порівнянні з даними інших дослідників. Цей розділ ще раз підкреслює цінність проведених досліджень.

Висновки дисертаційної роботи логічні, відображають результати, адекватні поставленій автором меті і вирішенню сформульованих задач.

Поставлена у роботі мета досягнута за рахунок конкретного формулювання завдань, адекватного підбору об'єкта та предмета досліджень. Використана дисертантом методологія та програма дослідження забезпечили здійснення зазначеної мети на сучасному та належному науково-методичному рівні. Сформульовані висновки є обґрунтованими. Їх достовірність забезпечена значним обсягом власних досліджень. В роботі використані сучасні та адекватні методи. Достовірність отриманих результатів обчислена за допомогою критерію Ст'юдента.

Наукова новизна одержаних результатів. В результаті комплексних досліджень визначено особливості біологічних ефектів в клітинах *in vitro* за умов поєднаної дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів (Cu і Ni). Встановлені порушення морфофункціонального стану (зміни щільності клітинної популяції, мітотичної та мітохондріальної активності клітин) в умовах впливу іонів важких металів (Cu і Ni) на опроміненні клітини. Виявлено дозову залежність апоптозу при поєднаній дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів

Виконано порівняльний аналіз біологічних ефектів при додаванні іонів нікелю до опромінених клітин у порівнянні із іонами міді.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження. Отримані дані щодо біологічних ефектів окремої та поєднаної дії іонізуючого випромінювання та солей міді й нікелю в клітинах *in vitro*, які були виявлені автором, можуть бути використані для прогнозування реакції швидкопроліферуючих клітинних популяцій.

Одним із найважливіших результатів даної дисертаційної роботи є те, що отримані результати доцільно враховувати при пошуку та розробці нових засобів для мінімізації шкідливого впливу іонізуючого випромінювання та важких металів на біологічні об'єкти.

В результаті проведених досліджень було виявлено суттєвий токсичний вплив сполук міді та нікелю на показники життєздатності клітин *in vitro*. За поєднаної дії на клітини радіації та іонів міді спостерігали зміни морфофункціональних властивостей клітин, які детермінувались або дозою опромінення, або концентрацією іонів мікроелемента. За умов інкубації опромінених клітин з іонами нікелю спостерігали сенсibilізацію клітин іонами нікелю до опромінення в дозах 0,5 та 5,0 Гр та резистентність клітин до опромінення в сублетальній дозі 10,0 Гр. При цитохімічному дослідженні основних мітохондріальних ферментів енергетичного обміну у культурі клітин

L₉₂₉ було виявлено високу радіочутливість їх активності до дії іонізуючої радіації. Інкубація опромінених клітин з іонами міді призводить до перерозподілу активностей ферментів енергообміну. із збільшенням вмісту катіону нікелю – активність СДГ та α -ГФДГ істотно збільшується. Це може бути компенсаторна активація, а її зрив відбувався при високому вмісту нікелю в поживному середовищі.

Повнота викладу наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях. Результати роботи викладені у 18 наукових працях: у 12 статтях у наукових журналах (зокрема у 4 статтях в журналах, рекомендованих ДАК України за спеціальністю «біологічні науки», включених у міжнародну наукометричну базу та у 3 статті в закордонному біологічному журналі) і 6 тезах доповідей на конференціях та з'їздах.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення.

Автореферат написаний у відповідності до змісту дисертаційної роботи і відображає її суть. Основні положення дисертації та її висновки ідентичні за змістом автореферату. Оформлення дисертації та автореферату відповідає сучасним вимогам.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Гапєєнко Д.Д. «Особливості біологічних ефектів за умов поєданого впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів у клітинах *in vitro*», яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 – радіобіологія є завершеною науково-дослідною роботою і відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д26.562.01, оформлена відповідно до вимог ВАК України і є завершеним комплексним науковим дослідженням. Результати дисертаційної роботи доповідались на багатьох конференціях та з'їздах.

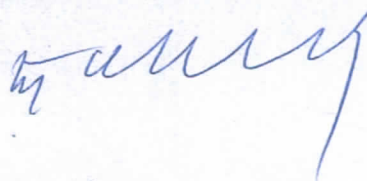
Питання до роботи:

1. Чому саме на культурі клітин проводили дослідження біологічних ефектів при дії радіаційного та хімічного факторів?
2. Чи не могла б дисертантка за отриманими експериментальними результатами сформулювати конкретні практичні рекомендації.

Висновок.

Таким чином, дисертаційна робота Гапеєнко Д.Д. «Особливості біологічних ефектів за умов поєднаного впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів у клітинах *in vitro*» за своїм науково-теоретичним рівнем, актуальністю, новизною вирішених завдань, обґрунтованістю основних положень і висновків 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.

Директор Інституту радіаційної та техногенно-екологічної безпеки
Чорноморського національного
університету імені Петра Могили,
доктор біологічних наук, професор



Ю.А. Томілін

Підпис проф. Томіліна Ю.А. засвідчую:
Вчений секретар Вченої ради
Чорноморського національного
університету імені Петра Могили,
кандидат політичних наук



М.В. Орленко

