



ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Пилипчук Олени Петрівни
«Особливості впливу комутагенів на радіочутливість хромосом
периферичної крові людини» представлену на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.01 – радіобіологія

Актуальність теми дисертації

Тема дисертаційної роботи О.П. Пилипчук присвячена з'ясуванню особливостей прояву явища комутагенезу в опромінених клітинах людини. Загальновідомо, що небезпека сполук-комутагенів полягає в тому, що не проявляючи власної мутагенної активності, вони не виявляються при генотоксичному скринінгу, але можуть суттєво модифікувати, а саме потенціювати ефекти деяких хімічних мутагенів. Сьогодні відсутні роботи, які передбачали б визначення впливу комутагенів на формування радіаційно-індукованих ефектів в соматичних клітинах людини. Особливу небезпеку серед потенційних комутагенів становлять препарати медичного призначення. В цьому напрямку виконано поодинокі та фрагментарні дослідження на культурі клітин експериментальних тварин. Тому визначення закономірностей модифікації комутагенами (верапаміл, аскорбінова кислота) променевих ефектів на хромосомному рівні в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) здорових осіб та онкологічних хворих в залежності від концентрації потенційних комутагенів медичного призначення, дози опромінення та ступеню радіочутливості клітин з метою покращення профілактики розвитку стохастичних ефектів опромінення, особливо онкологічних новоутворень радіаційного генезу, є актуальним питанням сучасної радіобіології. Все це обґрунтовує доцільність і своєчасність дисертаційної роботи. З огляду на це, безсумнівно, обрану тему слід вважати актуальною та перспективною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами

Дисертаційна робота виконана в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України в рамках планових НДР «Дослідження комбінованої дії оксидів азоту та малих доз

іонізуючої радіації на перебіг вільнорадикальних процесів, розвиток генетичної нестабільності та підвищення ризику онкологічних захворювань» (№ держреєстрації 0109U007155, 2010–2012 рр.); «Дослідження ролі NO-опосередкованих реакцій в реалізації дії екзогенного оксиду азоту та іонізуючого випромінювання при рості та метастазуванні пухлин» (№ держреєстрації 0112U004716, 2013–2015 рр.).

Достовірність та ступінь обґрунтування наукових положень, висновків сформульованих у дисертації

Мета і завдання дослідження сформульовані чітко і повністю відповідають намірам здобувача, які визначені у назві теми. Об'єкт і предмет дослідження описані змістовно. Вибрані сучасні методи дослідження, які відповідають поставленій меті і завданням. Достовірність та обґрунтованість наукових положень, викладених у дисертації, забезпечена достатньою кількістю експериментальних досліджень, їх коректним плануванням, використанням достатнього спектру методичних підходів, а також статистичним аналізом отриманих даних.

Висновки повністю узгоджуються з метою та задачами дослідження, добре обґрунтовані, правомірні, оскільки базуються на аналізі та узагальненні отриманих власних даних і є логічним завершенням роботи.

Новизна та практичне значення одержаних результатів

Наукова новизна дисертації полягає у тому, що в ній розширено уявлення про формування явища комутагенезу на хромосомному рівні опромінених клітин людини. Завдяки залученням генетичних, молекулярних та імуноцитохімічних методів досліджень показано, що процеси хромосомної та мікросателітної нестабільності, проліферація клітин, а також апоптоз відіграють важливу роль у формуванні комутагених ефектів в опромінених клітинах людини.

Практичне значення роботи полягає в тому, що отримані експериментальні дані дозволили визначити роль комутагенезу у підвищенні радіочутливості генетичного апарату соматичних клітин людини при

опроміненні в широкому діапазоні доз. Дисертантом визначено особливості формування комутагенних ефектів в немалігнізованих клітинах онкологічних хворих, що відкриває перспективи для подальшого проведення цитогенетичних досліджень в радіаційній онкології з метою зниження частоти і тяжкості променевих ускладнень в здорових тканинах, що зазнали опромінення, а також сприятиме запобіганню розвитку вторинних пухлин радіаційного генезу. За результатами дисертаційної роботи розроблено та запропоновано цитогенетичний спосіб виявлення комутагенних властивостей хімічних чинників в умовах впливу малих доз іонізуючих випромінювань.

Оцінка наукової якості, складу матеріалу і стилю написання дисертації та автореферату

Дисертація оформлена за традиційним стилем, викладена на 157 сторінках друкованого тексту та складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», п'яти розділів, у яких висвітлені результати власних досліджень, узагальнення, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел, який включає 215 посилань (із них 130 латиницею).

«Вступ» написаний змістовно. Автор обґрунтовує доцільність проведення запланованої наукової роботи, вказує на те, що за даними літератури ще не достатньо досліджено явище комутагенезу, особливо за дії іонізуючих випромінювань. Мету дослідження визначено чітко, добре сформульовано задачі для її вирішення. Інформативно викладені положення, що представляють наукову новизну та практичне значення отриманих результатів.

«Огляд літератури» дисертаційної роботи присвячено проблемі комутагенезу. Проведено аналіз наукових праць вітчизняних та зарубіжних авторів стосовно дослідження даного феномену. Розглянуто сучасний стан з'ясування механізмів біологічних ефектів іонізуючого випромінювання, детально описані механізми захисту геному людини від радіаційного впливу. Обґрунтовано актуальність та сформульовано основні напрямки досліджень

особливостей впливу комутагенів на радіочутливість хромосом соматичних клітин умовно здорових осіб та первинних онкологічних хворих для виконання дисертаційної роботи.

У другому розділі «Матеріали і методи дослідження» автор дає ретельну характеристику груп дослідження та представляє алгоритми проведених цитогенетичних досліджень для з'ясування формування комутагенних ефектів. Детально та поетапно описані методи виконання дисертаційних досліджень. Наведені математичні методи для обробки отриманих результатів дослідження.

Експериментальні дослідження проведені в декілька етапів та описані в п'яти розділах експериментальної частини дисертації (3-7 розділи).

Третій розділ роботи присвячено визначенню закономірностей формуванню хромосомних аберацій в культурі ЛПК здорових осіб за умов опромінення в широкому діапазоні доз (0,3; 0,5; 1,0 та 2,0 Гр) та в залежності від стадії радіочутливості клітин. В результаті досліджень автор показала перевагу лінійної компоненти, про що свідчить значення коефіцієнтів лінійного та лінійно-квадратичного регресійних рівнянь.

У наступному, четвертому, розділі визначено закономірності формування комутагенних ефектів в опромінених соматичних клітинах здорових осіб на основі вивчення спонтанного рівня аберацій хромосом, частоти і спектру радіаційно-індукованих хромосомних перебудов при введенні в тест-систему ЛПК вепарамілу (1,0-4,0 мкг/мл) та аскорбінової кислоти (20,0-80,0 мкг/мл) в різних дозах. Найбільш суттєвим результатом дисертаційної роботи автор вважає те, що було виявлено вплив комутагенів на радіочутливість клітин крові здорових осіб в умовах дії іонізуючих випромінювань в малих дозах. Автор показала, що комутагени у високих концентрації, тобто таких, що перевищують значення терапевтичної концентрації в 4 рази, потенціюють пошкоджуючу дію малих доз іонізуючого випромінювання на клітини людини.

П'ятий розділ дисертаційної роботи присвячений вивченню особливостей формування нестабільності генетичного апарату ЛПК онкологічних хворих в умовах комутагенної модифікації. Автор проаналізувала спонтанний та радіаційно-індукований рівень аберацій хромосом при опроміненні *in vitro* в малій дозі ЛПК онкологічних хворих та в умовах додаткової дії потенційних комутагенів; індукцію апоптозу та мікросателітну нестабільність генетичного апарату.

У наступному розділі автор досліджувала проліферативну активність ЛПК умовно здорових та онкологічних хворих за дії іонізуючої радіації в діапазоні доз 0,3-2,0 Гр, а також за умов комбінованого впливу опромінення та комутагенів верапамілу та аскорбінової кислоти. Автор показала, що додаткова дія комутагенів стимулює мітотичну активність опромінених *in vitro* у високій дозі ЛПК здорових осіб та онкологічних хворих.

Крім того, в цьому розділі, дисертанткою проведено порівняльну оцінку ефектів мутагенів хімічної природи і комутагенів, а саме вплив оксиду азоту окремо та в комбінації з верапамілом і аскорбіновою кислотою на стабільність генетичного апарату та утворення хромосомних перебудов ЛПК. Автор показала, що посилення індукованої нестабільності геному клітин за дії оксиду азоту в умовах комутагенної модифікації на відміну від реакції немалігнізованих клітин онкологічних хворих відбувається тільки у здорових осіб.

В заключному розділі дисертант підводить підсумки результатів отриманих власних досліджень, порівнює їх з даними літератури, а також висловлює власну думку з приводу дискусійних питань.

Текст дисертаційної роботи викладений змістовно, послідовно та логічно.

У авторефераті сформульовані основні положення дисертації, які повністю відповідають змісту та суті роботи.

В ході ознайомлення з дисертаційною роботою виникло декілька питань до дисертанта:

1. За рахунок чого Ви спостерігали плато на дозовій кривій при опроміненні культури лімфоцитів крові здорових осіб в області малих доз і як Ви поясните даний факт? (рис.3.1. стр 59)
2. Чому Ви зупинили увагу у власних дослідженнях на ефектах малих доз при дослідженні комутагенезу в клітинах онкологічних хворих?
3. Чим зумовлено залучення досліджень мікросателітної нестабільності ДНК онкологічних хворих в умовах комутагенної модифікації променевих ефектів?
4. Як на Вашу думку, підвищення проліферативної активності опромінених лімфоцитів в умовах додаткової дії комутагенів носить позитивний чи негативний характер для подальшої долі клітин?
5. Оксид азоту вважають сигнальною молекулою в клітинах, а у своїх дослідженнях Ви використовуєте його як мутаген, як Ви пояснюєте даний факт?

Вищенаведені дискусійні питання не носять суттєвий характер і не зменшують наукової цінності роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації

За матеріалами дисертації опубліковано 31 наукова праця, серед яких 14 статей, із них 6 статей у провідних фахових виданнях, затверджених ДАК МОН України (з яких 2 в журналах, внесених до міжнародних науково-метричних баз даних), 4 – в міжнародних журналах, 16 тез у матеріалах вітчизняних та міжнародних конференцій, конгресів та з'їздів та 1 інформаційний лист.

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Пилипчук О.П. «Особливості впливу комутагенів на радіочутливість хромосом периферичної крові людини», представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальності 03.00.01 – радіобіологія є завершеною самостійною науково-дослідною роботою, має практичну значимість і відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д.26.562.01.

Висновок. Вважаю, що за актуальністю, науковою новизною, достовірністю, практичною цінністю, структурою, змістом та оформленням кандидатська дисертація Пилипчук Олени Петрівни «Особливості впливу комутагенів на радіочутливість хромосом периферичної крові людини» є завершеною самостійною науково-дослідною роботою, в якій отримані нові обґрунтовані результати, що загалом вирішують конкретне наукове завдання, а саме – з'ясування особливостей формування комутагенних ефектів в опромінених радіочутливих клітинах людини. На підставі сказаного вважаю, що дисертація Пилипчук Олени Петрівни «Особливості впливу комутагенів на радіочутливість хромосом периферичної крові людини» відповідає вимогам п.11 та п.13 постанови Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.01 – радіобіологія.

Завідувач лабораторії радіаційної біохімії
Інституту експериментальної радіології,
ДУ «Національний науковий центр радіаційної
медицини НАМН України»,
доктор біологічних наук, професор



С. В. Андрейченко

Підпис С. В. Андрейченка

засвідчує

Ст. глос. ІЗН ММ Бафій Т. Н.

