

12 ВЕР 2016р

Вх.№

52/03-07 /k/a

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертацію Токарчук Катерини Олександрівни

«Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*»,

подану на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Актуальність обраної теми, теоретична та практична значущість.

Процеси вільнорадикального окиснення є складовою ланкою метаболічної активності клітин, які постійно відбуваються в живих організмах. В той же час, вільні радикали можуть проявляти і виразну токсичну дію на структурні компоненти клітин. Їх пошкоджуюча дія в багатьох випадках обумовлена подальшою стимуляцією процесів вільнорадикального окиснення, що призводить до розвитку оксидативного стресу, який проявляється накопиченням токсичних продуктів, зокрема, альдегідів. Це спричинює окисну модифікацію основних клітинних компонентів, що є підґрунтям у генезі різних патологічних станів.

Тому необхідним є дослідження ушкоджуючої дії надлишкового рівня низькомолекулярних альдегідів на організм для розуміння біохімічної природи порушень клітинного гомеостазу, а також важливим є пошук шляхів зменшення токсичного впливу альдегідів на організм. Зокрема, виявлення малотоксичних речовин, які б володіли акцепторними властивостями по відношенню до низькомолекулярних альдегідів, що дозволить зменшити наслідки карбонільного стресу на організм.

В зв'язку з цим дисертаційна робота Токарчук Катерини Олександрівни «Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*» є актуальним дослідженням, яке присвячене вивченню ролі альдегідів у формуванні оксидативного стресу при патологічних станах різного генезу.

Зв'язок теми з державними та галузевими програмами. Дисертаційна робота виконана у відділі регуляції обміну речовин Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України і є фрагментом наукової теми №1 «Порівняльне дослідження біологічної дії ендогенних альдегідів як регуляторів метаболізму та чинників його порушень при патологічних станах різного генезу»

(01 січня 2010 р - 31 грудня 2014 р), ДР № 0110U002700 «фундаментальні дослідження».

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше показано на моделях *in vitro* та *in vivo* із застосуванням акцептору альдегідів димедону участь альдегідів при формуванні оксидативного стресу. Виявлено, що *in vitro* в тимоцитах та *in vivo* при експериментальному рабдоміолізі та стрептозотоциновому діабеті у щурів альдегіди підвищують рівень вільних радикалів та викликають розвиток оксидативного стресу. Доведено здатність димедону знижувати інтенсивність вільнорадикальних процесів у щурів в тимоцитах *in vitro* та на моделях рабдоміолізу та стрептозотоцинового діабету *in vivo*.

Отримані дані розширюють уявлення про участь ендогенних альдегідів у розвитку оксидативного стресу при рабдоміолізі та діабеті у щурів.

Практична значимість отриманих результатів. Одержані данні відносно акцептора альдегідів – димедону, свідчать про його можливе використання як додаткового компоненту препаратів, спрямованих на зниження наслідків оксидативного стресу при різних патологічних станах.

Структура роботи. Дисертаційна робота Токарчук К.О. побудована за традиційною схемою – зміст, перелік умовних скорочень, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, результати досліджень та їх обговорення, узагальнення, висновки, список використаних джерел літератури.

Дисертаційна робота викладена на 132 сторінках друкованого тексту. Результати досліджень підсумовані та узагальнені у 3 таблицях і проілюстровані 40 рисунками. Список цитованої літератури складається з 244 найменувань.

Розділ 1 – «Огляд літератури» – складається з 8-ми підрозділів, перший з яких характеризує взаємозв'язок між оксидативним та карбонільним стресом; другий – присвячений структурно-функціональним властивостям карбонільних сполук; третій – шляхам утворення альдегідів; четвертий – системі антиоксидантного захисту та механізмам знешкодження карбонільних сполук; п'ятий та шостий – присвячений розвитку оксидативного стресу при рабдоміолізі та гіперглікемії; сьомий – характеризує акцептори альдегідів та восьмий безпосередньо присвячений димедону як акцептору альдегідів.

Резюмуючи викладене в «Огляді літератури», здобувач завершує даний розділ заключенням, який окреслює коло невирішених питань та вибір напрямку дисертаційної роботи.

У розділі «Матеріали та методи» вказані використані в роботі реактиви та матеріали, умови проведення експерименту, способи отримання біологічного матеріалу.

Цей розділ містить опис всього арсеналу використаних у роботі методик. Для вирішення поставлених задач Токарчук К.О. задіяла класичні біохімічні методи, фізичний метод (електронний парамагнітний резонанс) та методи математичної статистики.

Експериментальні результати та їх обговорення наводяться у 5-ти підрозділах, в яких представлені власні дані та проведено їх обговорення. У підрозділі 3.1 проведена оцінка здатності ендогенних альдегідів викликати оксидативний стрес в тимоцитах щура *in vitro*. У підрозділі 3.2 встановлено значення альдегідів у розвитку ферум-індукованого оксидативного стресу в тимоцитах щура. У підрозділі 3.3 визначена загальна характеристика токсичності димедону *in vivo*. У підрозділі 3.4 досліджена роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу при експериментальному рабдоміолізі у щурів *in vivo*. У підрозділі 3.5 вивчено значення альдегідів у розвитку оксидативного стресу при стрептозотоцин-індукованому діабеті у щурів *in vivo*. Кожен з підрозділів завершується висновками.

Сукупність представлених експериментальних результатів дала можливість Токарчук К.О. вирішити, поставлені перед нею завдання, а також зробити відповідні узагальнення.

П'ять висновків, зроблених автором, є обґрунтованими та базуються на отриманих експериментальних результатах.

Список використаних джерел літератури містить 244 посилання.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій. Сформульовані положення, висновки та рекомендації ґрунтуються на експериментальних даних, одержаних на основі достатньої кількості повторностей в експерименті, використанні адекватних методів дослідження та аналізу отриманих результатів. Інтерпретація результатів відповідає опубліко-

ваним у наукових фахових виданнях. Достовірність даних підтверджена статистичним аналізом.

Повнота викладу основних результатів досліджень у наукових фахових виданнях. Основні результати дисертації опубліковані у 15-ти наукових працях, з них 5 статей, серед яких дві статті у виданнях України, що включені до міжнародних наукометричних баз, одна стаття у іноземному виданні, один патент на корисну модель та 10 тез доповідей на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях.

Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу, в процесі її рецензування виникли наступні запитання, зауваження та побажання:

1. Огляд літератури перенасичений підрозділами (8), частину з яких можна було б об'єднати для кращого сприйняття матеріалу. Зокрема, об'єднати: підрозділ 1.5. «Розвиток оксидативного стресу за експериментального рабдоміолізу» та підрозділ 1.6. «Розвиток оксидативного стресу за умов гіперглікемії», які обидва присвячені розвитку оксидативного стресу при захворюваннях; підрозділ 1.7. «Акцептори альдегідів» та підрозділ 1.8. «Димедон як пастка альдегідів», в яких наведена інформація стосовно речовин, що володіють акцепторними властивостями по відношенню до альдегідів.

2. У тексті дисертації автор використовує англomовні та українські слова для вираження одного і того ж терміну (кисень – оксиген, залізо – ферум, мідь – купрум та ін.).

3. У розділі «Матеріали та методи» чому вміст ТБК-реагуючих продуктів у пробі визначали по калібрувальній кривій, яку будували з використанням стандарту тетраетоксипропану, а не розраховували на основі значення молярного коефіцієнта екстинкції комплексу малонового діальдегіда з 2-тіобарбітуровою кислотою?

4. У розділі «Матеріали та методи» при описанні методу визначення карбонільних груп протеїнів вказано, що у тимоцитах оптичну густину вимірювали при 340, 370 та 420 нм, а у результатах представлена тільки одна величина. Як Ви можете це пояснити?

5. У розділі «Матеріали та методи» при описанні методу визначення активності супероксиддисмутази не вказано як проводився розрахунок активності ферменту.

6. У підрозділі 3.1 «Оцінка здатності альдегідів, що можуть утворюватись ендогенно, викликати оксидативний стрес в тимоцитах щура *in vitro*» отримані результати майже не обговорюється та відповідно відсутні посилання на літературу.

7. У підрозділі 3.1 «Оцінка здатності альдегідів, що можуть утворюватись ендогенно, викликати оксидативний стрес в тимоцитах щура *in vitro*» на рисунку 3.6 як пояснити виявлений у тимоцитах максимальний вміст ТБК-активних продуктів при концентрації метилглюксалю 200 мкМ, а не при 600 мкМ?

8. У підрозділі 3.2 «Роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу в системі Фентона (Fe^{2+} -аскорбат) в тимоцитах щура» відсутні посилання на літературу при наведенні наукових фактів.

9. У підрозділі 3.2 «Роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу в системі Фентона (Fe^{2+} -аскорбат) в тимоцитах щура» відсутні дані продукції активних форм кисню в тимоцитах щура при інкубації з сірчанокислим залізом (FeSO_4) у концентрації 20 мкМ, а також немає контрольної групи клітин з додаванням димедону.

10. У підрозділі 3.2 «Роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу в системі Фентона (Fe^{2+} -аскорбат) в тимоцитах щура» як пояснити більшу ефективність димедону на зниження вмісту карбонільних груп протеїнів в тимоцитах при інкубації з 30 мкМ FeSO_4 , ніж при 20 мкМ FeSO_4 (рис. 3.15)?

11. Поясніть, будь ласка, чому для визначення показників оксидативного стресу при рабдоміолізі була обрана 4-та доба, оскільки зниження частини біохімічних показників (загальний гем, креатинін, креатинкіназна активність) плазми крові спостерігалось з 3-ї доби (табл. 3.3)?

12. У пункті 3.4.2 «Роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу при рабдоміолізі» на рисунках 3.22-3.24 та у пункті 3.5.2. «Роль альдегідів у розвитку оксидативного стресу при стрептозотоцин-індукованому діабеті у щурів» на рисунках 3.29-3.35 відсутні групи контрольних тварин, яким вводили димедон.

13. Чи можна вважати позитивним ефектом димедону на печінку при стрептозотоцин-індукованому діабеті, який призводить до зростання суперок-

сиддисмутазної активності порівняно з контролем та нормалізації каталазної активності?

14. Заключний розділ можна було б зробити більш розширеним та дати посилання на літературу при обговоренні результатів.

15. Чому у дисертаційній роботі серед 244 літературних посилань лише 9 належать до українськомовних джерел?

Відзначені зауваження не мають принципового характеру і не зменшують наукової цінності роботи.

У цілому кандидатська дисертація Токарчук Катерини Олександрівни «Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*» є актуальним дослідженням у галузі біохімії, в якому отримано результати, що в сукупності вирішують поставлену проблему та розкривають роль альдегідів у біохімічних механізмах розвитку оксидативного стресу при патологічних станах різного генезу.

Автореферат відповідає основному змісту дисертації. Дисертація та автореферат оформлені з дотриманням рекомендацій і вимог, які ставляться до такого роду робіт.

Вважаю, що за своїм змістом, науковою новизною, прикладною цінністю і отриманими науковими результатами дисертаційна робота Токарчук Катерини Олександрівни «Участь альдегідів у розвитку оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo*» є закінченою науковою працею, що відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабміну України від 24. 07. 2013 № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Завідувач науково-дослідної лабораторії «Біохімії»
відділення біологічних і біомедичних технологій
ННЦ «Інститут біології»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
д.б.н., с.н.с.



К.О. Дворщенко

Пірніс завідувач
заступник директора
з основної роботи

О.С. Коромис