

ВІДГУК

**офіційного опонента, професора Гоженка Анатолія Івановича
на дисертаційну роботу Степанова Геннадія Федоровича на тему
«Патофізіологічні механізми дії іонізуючого випромінювання
на метаболізм м'язової тканини»,**

поданої до спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 Одеського національного медичного університету МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

Актуальність теми дисертації.

Проблема безконтрольного впливу радіації та іонізуючого опромінення на організм людини за умов сьогодення не втрачає своєї актуальності, що обумовлено низкою чинників.

По-перше, слід відзначити, поступове зростання складності клінічної картини у тих випадках, коли пацієнти звертаються за допомогою до лікарів. Маю на увазі випадки індукованої радіаційним впливом коморбідної патології, яка зараз часто реєструється, завдяки її поліетіологічності, складності та комплексності патогенетичних механізмів, а також її недостатньою діагностикою та неефективністю лікування, в тому числі й комплексного.

По-друге, слід визнати, що ми на сьогодні не оперуємо статистичними даними, які здатні виявити масштаб поширеності цієї патології в країні, що також є негативним моментом в аспекті перспектив її профілактики та лікування.

По-третє, несприятливим фоном для аналізу результатів дисертаційної роботи здобувача є триваюча військова агресія проти нашої країни з великим ризиком атомної та/або ядерної катастрофи, що в разі підвищує актуальність наукового дослідження Г.Ф. Степанова та важливість клінічної частини його даних в аспекті комплексної патогенетично обґрунтованої фармакокорекції м'язових порушень в разі впливу іонізуючого опромінення.

По-четверте, ключовим моментом методологічної побудови дисертаційної роботи є те, що неефективність лікування хворих з м'язовими дисфункціями є

наслідком недостатньої глибини нашого розуміння патогенетичних механізмів цієї патології – я взагалі акцентую увагу на широкому аспекті м'язів в цілому в організмі - із чого дисертант логічно припустив необхідність ретельного вивчення окремих ланок патогенезу спричинених радіаційним впливом порушень енергетичного обміну м'язів для розробки нової ефективної схеми фармакокорекції з урахуванням виявлених ланцюгів патогенезу захворювання.

І, насамкінець, вважаю, що при вивченні проблеми спричинених радіацією порушень м'язової системи ми маємо гарний приклад генетично обумовленої дисфункції, зважаючи на строк життя другого покоління людей після аварії на Чорнобильській АЕС, що робить науковий напрямок, обраний для дослідження в даній дисертаційній роботі актуальним для патологічної фізіології, клінічної патологічної фізіології, радіології, біохімії, фармакології та низки споріднених клінічних дисциплін.

Дисертант відзначає важливість та актуальність оцінки біологічної ефективності пролонгованої дії низькоінтенсивного опромінення, що за сьогоdnішніх умов становить виражену небезпеку через феномен сумації. Він стверджує, що ефективність тривалого опромінення малими дозами є вищою, ніж отримана при опроміненні високими дозами. Він підкреслює, що важливо за умов впливу іонізуючого опромінення розуміти генетичну обумовленість індукованих радіаційним фоном динаміку змін структури ДНК, виражені порушення функціонування окислювально-відновлювальної системи, злам регуляторних процесів в організмі з кінцевим пошкодження клітинних мембран, ковалентним зв'язуванням метаболітів і порушенням енергетики клітини.

Дисертант вказує на недостатньо досліджені механізми впливу іонізуючої радіації на тканинному рівні. Дійсно, багато питань щодо встановлення фізіологічних механізмів адаптації організму людини у відповідь на вплив іонізуючого опромінення недостатньо досліджені і потребують вдосконалення. Саме на цьому акцентує увагу дисертант при визначенні актуальності власного наукового дослідження та напрямків реалізації сформульованої мети дисертації. Остаточо не визначеними є фізіологічні механізми адаптації м'язової тканини у

відповідь на вплив іонізуючого опромінення, відсутні дані щодо патофізіологічних та патобіохімічних механізмів дисфункції м'язової системи при впливі на біологічний організм іонізуючого опромінення, особливо іонізуючого опромінення мінімальними дозами. Недостатньо дослідженими є патофізіологічні механізми дисфункцій м'язів у нащадків опромінених осіб, які самі піддані опроміненню.

Важливо при цьому, що дисертант не зупиняється лише на відокремленні окремих ланцюгів патогенезу радіаційно-спричинених порушень функціонування м'язів, але й вирішує проблему патогенетично спрямованої фармакотерапії м'язових дисфункцій. Відзначу, що дисертаційна робота Г.Ф. Степанова є актуальною та важливою для патологічної фізіології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом 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). Дисертант є науковим керівником цієї наукової теми.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в тому, що вперше було досліджено особливості енергетичного обміну у статевозрілих щурів та щурят інфантильного віку в умовах дії іонізуючої радіації малими дозами, що дозволило визначити діапазон вираженості дисфункцій скелетного та серцевого м'язів у тварин двох поколінь. Так, в роботі досліджені результати опосередкування генетичним апаратом впливу малих доз іонізуючого опромінення на процеси енергопостачання для функціонування м'язової системи. Зважаючи на широку представленість м'язової системи в організмі, масштабність функціонування м'язів та їх регуляторні властивості за умов норми вважаю цінним цей аспект наукової новизни дисертаційної роботи, оскільки а

разі патології вкрай важливим є розуміння патофізіологічних механізмів або адаптації м'язової системи, або її розладів. Останнє є принциповим моментом для розробки патогенетично орієнтованої фармакокорекції даного патологічного стану.

Відзначу, що в дисертаційній роботі є багато принципових результатів, які становлять її наукову новизну та теоретичну важливість. На підставі аналізу отриманих результатів вперше з'ясовані механізми порушення функціонування м'язової системи у опромінених нащадків, які народжені від опромінених тварин. При цьому всебічно досліджені зміни ізоферментних спектрів, конкурентного та неконкурентного інгібування ферментів, зміни хімічних властивостей та вмісту скорочувальних білків м'язів.

Дисертантом вперше доведено, що протягом пострадіаційного періоду в тканинах відбувається накопичення відновлених форм НАДН, що спричиняє розвиток ацидозу та створює умови для конкуренції між аеробними та анаеробними процесами, де перевагу мають анаеробні реакції.

Автором вперше визначена динаміка функціонування човникових механізмів транспорту відновлених еквівалентів у мітохондріях скелетного та серцевого м'язів нащадків інтактних і опромінених у різних дозах тварин, підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр.

Вперше визначені патофізіологічні механізми та доведено залежний від дози іонізуючого опромінення характер змін біоенергетичних процесів у м'язах нащадків опромінених тварин, що характеризується накопиченням кінцевих продуктів гліколізу, послабленням процесів субстратного та окисного фосфорилування та накопиченням кінцевих продуктів циклу Кребса. Встановлено, що провідним патобіохімічним механізмом накопичення малату є посилення зворотної НАД-залежної малатдегідрогенази в цитоплазмі та в мітохондріях м'язової тканини, а також переважання зворотної НАДФ-залежної малатдегідрогеназної реакції.

В дисертації вперше виявлені патофізіологічні механізми порушень метаболічних шляхів, які забезпечують функціонування м'язової системи

опромінених тварин та їх нащадків, що піддані опроміненню. Вперше розроблено та оцінено ефективність патогенетично обґрунтованої фармакологічної корекції постпроменевих дисферментозів у м'язах опромінених тварин введенням гормонально-вітамінного комплексу.

Вперше доведена доцільність та патофізіологічна обґрунтованість використання показників енергозабезпечення м'язової системи, а також фізичної працездатності в якості діагностичних критеріїв наслідків променевого ураження організму, які дозволять оцінити глибину, вираженість, спрямованість, незворотність та здатність щодо адаптації м'язової системи до впливу іонізуючої радіації.

Теоретичне значення результатів дослідження.

Поглиблені існуючі уявлення про механізми адаптації скелетного та серцевого м'язів до дії різних доз іонізуючого опромінення з точки зору залучення до цього процесу енергетичного дисбалансу, порушень функціонування окремих ферментів та регуляторних механізмів.

Ретельно простежені патобіохімічні зміни енергетичного забезпечення функціонування м'язів у статевозрілих опромінених тварин та їхніх нащадків.

Вперше отримані дані дозволили започаткувати створення системи розробки підходів до спрямованої корекції постпроменевих дисферментозів у м'язах опромінених тварин.

Вперше патогенетично обґрунтовано підвищення фізичної працездатності нащадків опромінених тварин, які піддані опроміненню, що з патофізіологічної точки зору є підґрунтям доцільності використання цих показників в якості діагностичних критеріїв наслідків променевого ураження організму та критеріїв оцінки ефективності застосованої патогенетично обґрунтованої корекції пострадіаційних дисферментозів.

Науково обґрунтовано використання гормонально-вітамінного комплексу з лікувально-профілактичною метою при впливі іонізуючого опромінення.

Розроблені прогностичний критерій і спосіб профілактики радіаційних порушень енергетичного обміну у нащадків, народжених від опромінених у різних дозах тварин та підданих опроміненню у дозі 1,0 Гр, патогенетично обґрунтовані, ефективність доведена в експериментальних умовах, що створює підґрунтя для їх застосування в клінічній практиці.

Практичне значення результатів дослідження.

Розроблений спосіб експериментального моделювання радіаційного опромінення збільшує можливості оцінки впливу іонізуючої радіації на молодий, опромінений малою дозою, організм, дозволяє оптимізувати дослідження механізмів радіаційно-індукованих розладів структури і функції м'язової тканини, а також розробку та оцінку ефективності адекватних, патогенетично орієнтованих методів корекції досліджуваних розладів.

Дисертант обґрунтував практичну значущість застосування критеріїв енергетичного постачання м'язів у якості прогностичних критеріїв при оцінці впливу іонізуючого опромінення на організм людини. Отримані дані дозволяють також теоретично обґрунтувати та рекомендувати для практичного застосування спосіб профілактики радіаційних порушень енергетичного обміну у нащадків опромінених осіб застосуванням гормонально-вітамінного комплексу

Практична значимість отриманих результатів підтверджується впровадженнями основних положень дисертаційної роботи Г.Ф. Степанова у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології, біохімії та фармакології 8 вищих навчальних медичних закладів України.

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

Обґрунтованість і достовірність положень, висновків та практичних рекомендацій дисертаційної роботи базується на результатах експериментальної частини роботи.

Дисертант надає чітке обґрунтування методологічній побудові власної наукової роботи. Дисертаційне дослідження виконано у 3 три етапи, завданнями яких були послідовні намагання відтворення стану іонізуючого опромінення, дослідження патофізіологічних та патобіохімічних механізмів функціонування м'язової системи опромінених тварин та їхніх нащадків, які піддані опроміненню різними дозами та визначення ефективності патогенетично обґрунтованої фармакологічної корекції патобіохімічних змін крові та м'язової системи опромінених тварин-батьків та їхніх нащадків.

Досліди були виконані на 240 статевозрілих щурах лінії Вістар та 260 їхніх нащадках віком 1 місяць відповідно до сучасних вимог та протоколів організації та проведення дослідів за участю хребетних тварин.

Загальне число обстежень, обраних критеріїв дослідження, експериментальних груп тварин, а також груп контролю є достатнім для обґрунтування основних положень та висновків дисертації.

Проведений статистичний аналіз виділених дисертантом експериментальних груп досліджень за основними показниками засвідчує релевантність груп та можливість статистичної оцінки та співставлення отриманих результатів. В дисертаційній роботі використані сучасні загальноприйняті методи статистичної обробки отриманих результатів. До уваги дисертант приймав лише статистично відмінні розбіжності.

Дисертаційна робота викладена на 394 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, шести розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел (428 найменувань, в тому числі 208 – кирилицею та 220 - латиницею) і додатків. Робота ілюстрована 74 таблицями і 53 рисунками, які суттєво полегшують її розуміння.

Наукові положення, висновки і практичні рекомендації впливають із фактичного матеріалу, є обґрунтованими, які логічно завершують роботу, достовірні та мають теоретичне та практичне значення.

Відповідно до мети та завдань дисертаційної роботи опрацьовано її структуру, визначено об'єкт і предмет дослідження, комплекс патофізіологічних, біохімічних, радіобіологічних, фармакологічних та статистичних методів.

Перший розділ дисертаційної роботи присвячений огляду наукової літератури про патофізіологічні механізми адаптації м'язової системи у відповідь на вплив радіаційного опромінення. Увага акцентується на впливі радіаційних факторів довкілля на структурно-функціональні властивості м'язової тканини. Дисертант наводить дані сучасної наукової літератури стосовно механізмів радіаційно-індукованої нестабільності геному у опромінених батьків та їхніх нащадків та аналізує наведені факти. Присутній підрозділ, який присвячений експериментальному визначенню шляхів репарації променевих уражень за умов досліду та в клініці. Огляд літератури завершується тим, що дисертант визначає актуальною тему та напрямок проблеми з'ясування патофізіологічних механізмів індукованих іонізуючим опроміненням м'язових дисфункцій.

У Розділі 2 «Матеріали і методи досліджень» наведено особливості проведення експериментальних досліджень, патофізіологічні, радіобіологічні, біохімічні, фармакологічні методи дослідження, а також критерії статистичної оцінки отриманих результатів. Наведені дані по особливостям опромінення тварин та отримання експериментального матеріалу, моделювання фізичного навантаження, а також визначення активності ферментів та вмісту досліджуваних продуктів метаболізму. Ретельно описані експериментальні групи дослідження на різних етапах виконання наукової роботи.

Наведена методика статистичного аналізу отриманих результатів.

Розділ 3 присвячений дослідженню функціональної активності різних видів м'язів у опромінених тварин. Наведені результати фертильності, фізичної працездатності, стану системи крові, а також вміст скорочувальних білків у різних видах м'язів опромінених різними дозами тварин. На підставі цього дисертантом доведено зростання показника летальності нащадків і зменшення середньої тривалості життя щурят зі збільшенням дози опромінення тварин.

В розділі 4 наведені представлені фактичні дані, які характеризують функціональну активність різних видів м'язів у нащадків опромінених тварин. Доведено в тому числі, що активність лактатдегідрогенази в міокарді та в скелетному м'язі 1-місячних щурят суттєво перевищує таку у статевозрілих тварин на фоні незначного зростання активності піруваткінази і підвищення вмісту пірувату та лактату.

Аналіз отриманих даних дозволив дисертанту констатувати зростання активності прямої НАД-залежної малатдегідрогеназної реакції у мітохондріях нащадків відповідно такого показника у статевозрілих тварин. Він відзначає, що при цьому активність зворотної НАД-залежної малатдегідрогеназної реакції у мітохондріях нащадків зростає порівняно з їхніми батьками на фоні зменшення її активності у цитоплазмі клітини. Особливо це характерно для скелетного м'яза. Активність прямої НАДФ-залежної декарбоксилуючої малатдегідрогенази у м'язовій тканині нащадків є вищою, а активність зворотної НАДФ-залежної декарбоксилуючої малатдегідрогеназної реакції знижена порівняно з інтактними статевозрілими тваринами.

Отримані дані про зміни активності м'язів у нащадків опромінених тварин коректно порівнюються з відповідними даними у їхніх батьків, на підставі чого зроблені відповідні висновки.

Розділ 5 присвячений обґрунтуванню головних патогенетичних механізмів енергетичного дисбалансу та нестачі за умов дії іонізуючого опромінення. Доведено зниження процесів субстратного фосфорилування в скелетному м'язі та їхня інтенсифікація у міокарді зі збільшенням дози опромінення статевозрілих тварин. При цьому дисертант відзначає зростання активності лактатдегідрогенази у сироватці крові, що, по-перше, висвітлює посилення гліколітичних процесів у м'язовій тканині за умов досліду, і, по-друге, корелює з активацією прямої малатдегідрогенази у сироватці крові, що свідчить про розвиток ацидозу і порушення проникності мембран м'язових клітин.

Продемонстровано перебудову функціонування човникових механізмів транспорту відновлених еквівалентів у мітохондріях м'язів опромінених тварин.

Розділ №6 присвячений вивченню біоенергетики м'язового скорочення у нащадків опромінених тварин дозою 1,0 Гр. Доведено патогенетичну важливість зменшення вмісту скорочувальних білків у скелетному та серцевому м'язах у нащадків опромінених дозою 1,0 Гр тварин, які були піддані опроміненню тією же дозою в динаміці після опроміненого періоду. Так, автор доводить, що у цей термін у скелетному м'язі вміст міозину був нижчий у 2,5 рази, вміст актину – у 9 разів, тропоніну – у 7,3 раза, а тропоміозину – у 7 разів. У серцевому м'язі вміст актину був нижчим у 2,3 раза, тропоніну – у 6,8 раза, а тропоміозину – у 8,5 рази на відміну від міозину, вміст якого був нижчий майже на 45 %.

Дисертант впевнено доводить зниження активності Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФ-ази актоміозину і міозину та K^{+} -АТФ-ази актоміозину і міозину в усіх видах м'язів в якості патогенетичного механізму м'язових дисфункцій у нащадків опромінених тварин.

Розділ №7 присвячений дослідженню наслідків впливу іонізуючої радіації на біоенергетику м'язів. Автором досліджено модифікацію ферментів у скелетному та серцевому м'язах нащадків опромінених різними дозами тварин. За допомогою біохімічних методів дослідження встановлена патогенетична роль змін в якісному та кількісному складі ізоферментних спектрів лактатдегідрогенази та креатинфосфокінази у м'язовій тканині нащадків, опромінених дозою 1,0 Гр, зі зростанням дози опромінення їхніх батьків у 2 рази. Дисертант за результатами наведених у розділі фактичних даних наводить висновки стосовно наявності епігенетичних змін в якісному та кількісному складі ізоферментних спектрів креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази у нащадків опромінених тварин, що є провідним патофізіологічним механізмом метаболічних порушень в м'язовій тканині досліджуваних груп тварин та змін їх фізичної працездатності.

В розділі №8 надано патогенетичне обґрунтування шляхів репарації, фізичної працездатності опромінених тварин та їх нащадків. Дисертант довів ефективність застосування гормонально-вітамінного комплексу при корекції обумовлених іонізуючим опроміненням м'язових дисфункцій та постпроменевих

дисферментозів у м'язах опромінених тварин. Ним впевнено показано найбільш виражений відновлювальний вплив гормонально-вітамінного комплексу в аспекті підвищення фізичної працездатності нащадків опромінених тварин за рахунок посилення гліколітичного субстратного фосфорилування та посилення окиснювального потенціалу циклу трикарбонових кислот на етапах дії малатдегідрогенази і сукцинатдегідрогенази.

В розділі №9 описано аналіз та узагальнення отриманих результатів, що продемонстровано 57 рисунками та тлумаченням основних патофізіологічних та патобіохімічних механізмів м'язових дисфункцій та постпроменевих дисферментозів у опромінених тварин та їхніх нащадків за умов експериментального відтворення впливу різних доз іонізуючого опромінення та розробки патогенетичної схеми фармакологічної корекції індукованих радіацією порушень функціонування м'язової системи.

Вважаю, що дисертаційна робота описана методично вірно, враховуючи чинні вимоги ДАК МОН України.

Повнота викладу результатів дисертаційного дослідження в опублікованих працях.

За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 37 наукових праць, зокрема, 22 статті у фахових наукових видання, рекомендованих ДАК МОН України (4 статті у виданнях, які індексуються базою даних Web of Science і SCOPUS, та 6 статей в міжнародних виданнях, які внесені до наукометричних баз) та 11 тез доповідей у матеріалах наукових форумів та конференцій за фахом дисертації. Дисертант є співавтором 4 навчальних посібників.

Недоліки дисертаційної роботи щодо її змісту та оформлення.

В дисертаційній роботі зустрічаються окремі стилістичні помилки та повторення, які не є суттєвими на не впливають на загальну позитивну оцінку всієї роботи в цілому.

В ході рецензування дисертаційної роботи виникли наступні питання.

1. Чи переконані Ви у клінічних перспективах застосування показаної Вами ефективної в експерименті комплексної схеми лікування із застосуванням гормонально-вітамінного комплексу? Яка Ваша думка стосовно механізмів реалізації захисного ефекту даної фармакологічної схеми?

2. Який патофізіологічний механізм Ви вважаєте провідним у розвитку м'язових дисфункцій у нащадків опромінених щурів? Скажіть, чи різняться патофізіологічні механізми м'язової адаптації у відповідь на вплив іонізуючого опромінення у щурів-батьків та їх нащадків?

3. Яка Ваша думка стосовно пояснення ефекту уражуючого впливу іонізуючого опромінення мінімальними дозами?

Рекомендації щодо використання результатів дослідження у практиці.

Матеріали дисертаційної роботи Г.Ф. Степанова можуть бути рекомендовані для подальшого поглибленого вивчення у навчальній діяльності вищих медичних закладів при викладенні розділів загальної патофізіології, біохімії м'язового скорочення.

Клінічна спрямованість висновків дисертаційної роботи в частині розробки комплексної патогенетично обґрунтованої фармакологічної корекції індукованих іонізуючим опроміненням м'язових дисфункцій дають підстави рекомендувати результати до практичного використання в роботі терапевтичних та неврологічних відділень обласних та міських лікарень.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Степанова Геннадія Федоровича на тему «Патофізіологічні механізми дії іонізуючого випромінювання на метаболізм м'язової тканини» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія виконана на сучасному науковому та методичному рівні, є завершеною, кваліфікованою, самостійною науково-дослідною працею. Отримані нові, обґрунтовані, достовірні результати,

сукупність яких містить нове рішення актуальної проблеми сучасної медичної науки.

За актуальністю теми, обсягом досліджень, викладеним матеріалом, обґрунтованістю висновків, науковою новизною і практичним значенням дисертація повністю відповідає вимогам «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197, а її автор Степанов Геннадій Федорович заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

Заслужений діяч науки і техніки України,
Директор ДП «Український науково-дослідний
інститут медицини транспорту» МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

Гоженко А.І.

Підпис 
підтверджую
Учений секретар ДП «УкрНДІ МТ»


