

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора біологічних наук, провідного наукового співробітника відділу гіпоксії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України Розової Катерини Всеволодівни, на дисертаційну роботу Киричека Павла Володимировича на тему «Морфофункціональні особливості гладеньких м'язів товстої кишки за умов впливу екзогенних біологічно активних речовин», подану до разової спеціалізованої вченої ради Національного університету фізичного виховання і спорту України для захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Добре відомо, що досягнення високих результатів у спорті обумовлюється багатьма факторами, котрі повинні забезпечувати залучення усіх функціональних резервів організму. Одним з таких факторів є ефективна мобілізація поживних речовин з їжі, які є одним з основних джерел енергії в організмі. Реалізація цього процесу забезпечується скоротливою діяльністю м'язового апарату шлунково-кишкового тракту зокрема моторною функцією товстої кишки, яка, як слушно підкреслює автор, регулюється складною взаємодією нервових і гуморальних чинників. Особливо актуальним це є для спортсменів, для яких значення повноцінного засвоєння поживних речовин є запорукою максимальної мобілізації поживних речовин, а отже підтримки та забезпечення адекватного метаболізму при фізичному навантаженні.

Ефективність екзогенних коректорів цієї функції дотепер залишається недостатньо вивченою. Це обумовлює необхідність пошуку нових та розширення можливостей застосування відомих речовин, здатних модулювати скоротливу активність кишок, що на даний час є актуальною проблемою біологічної науки.

Порушення моторики органів травлення, а саме, сповільнення скоротливої діяльності кишок викликає зміни, найчастіше негативні, гомеостазу кишкової мікробіоти, що, за сучасними науковими даними, призводить до низки порушень функціонування органів та систем. Автор підкреслює, що без належного виконання регуляторних впливів стає практично неможливим не лише здійснення скоротливої діяльності м'язів кишківника, зокрема й товстої кишки, а і здійснення процесів оптимального перетравлення та всмоктування продуктів гідролізу поживних речовин в організмі спортсмена. Саме тому пошук потенційних факторів, здатних фізіологічно корегувати здійснення моторної функції кишок є важливим і актуальним питанням як для сучасної біологічної науки, так і для сфери

спорту вищих досягнень. Слід підкреслити, що регуляції моторної функції товстої кишки до останнього часу не приділялось належної уваги і не створено завершеної концепції з цієї проблеми.

Мета роботи: встановлення морфофункціональних змін у гладеньких м'язах стінки товстої кишки за умов впливу екзогенних біологічно активних речовин.

Зв'язок роботи з науковими планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України, відповідно до Плану науково-дослідної роботи Національного університету фізичного виховання і спорту України на 2016 – 2020 рр. за темою «Особливості соматичних, вісцеральних та сенсорних систем у кваліфікованих спортсменів на різних етапах підготовки» (№ державної реєстрації 0116U001632) та Плану науково-дослідної роботи Національного університету фізичного виховання і спорту України на 2021 – 2025 рр. за темою «Вплив ендогенних та екзогенних факторів на перебіг адаптаційних реакцій організму до фізичних навантажень різної інтенсивності» (державний реєстраційний номер 012U108187).

Наукова новизна дисертаційної роботи.

Наукова новизна одержаних дисертантом результатів відповідає заявленому рівню роботи, викладена доступно і обґрунтовано. Вперше: комплексно і системно з'ясовано вплив флокаліну, форидону, сполуки «С» і суміші флокаліну і форидону на показники скоротливої активності товстої кишки; встановлені характерні прояви змін морфологічних структур товстої кишки під дією означених речовин (стінки товстої кишки, м'язової оболонки стінки товстої кишки, кровоносних капілярів стінки товстої кишки, мастоцитів брижі); встановлено особливості змін секреторної діяльності тучних клітин поверхневої фасції живота і брижі щурів на дію флокаліну, форидону, їх суміші, а також E510, кверцетину і кофеїну в умовах *in vivo* та *in vitro*.

До того ж підтверджено та розширено наукові знання щодо ефектів хлориду амонію, кверцетину і кофеїну на рухову функцію товстої кишки.

Практичне значення результатів дослідження забезпечують вирішення важливої наукової проблеми корегування рухової активності товстої кишки за допомогою екзогенних біологічно активних речовин. Узагальнені результати дослідження і підготовлені на їх основі практичні рекомендації плануються використовувати у практиці підготовки спортсменів і осіб, які займаються оздоровчою руховою активністю і прагнуть вести здоровий спосіб життя, що буде сприяти підвищенню ефективності тренувального процесу і змагальної діяльності. Також одержані результати

можуть мати практичне значення у клінічній практиці, в складі допоміжної терапії порушень моторної функції товстої кишки.

Основні теоретичні положення дисертаційної роботи впроваджено в освітній процес при викладанні фізіології людини на кафедрі медичної біології і спортивної дієтології Національного університету фізичного виховання і спорту України (30.09.2024 р.), кафедри фізіології і анатомії навчально-наукового центру «Інститут біології і медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (02.10.2024 р.), кафедри фізіології з основами біоетики та біобезпеки Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (29.11.2024 р.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.

Наукові положення дисертації, висновки достатньою мірою обґрунтовані теоретичними та експериментальними даними, відповідають меті, завданням, об'єкту та предмету дослідження. Забезпечується репрезентативним обсягом обстеження. Постановка експериментального дослідження і усі маніпуляції з тваринами були проведені відповідно до міжнародних принципів Гельсінської декларації «Про гуманне ставлення до тварин», прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000) і «Спільними етичними принципами експериментів над тваринами», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Утримання і маніпуляції над лабораторними щурами проводилися відповідно до правил, встановлених «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і положеннями Закону України № 3477-IV від 21.02.2006р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Достовірність отриманих в дисертації результатів забезпечено сучасними методологічними та методичними підходами та статистичними методами, які є також цілком обґрунтованими. Об'єкт і предмет дослідження сформульовані чітко та відповідають меті та завданням роботи. Етапи дослідження є логічними і послідовними. Тобто методичний рівень роботи, відповідність вибірки критеріям репрезентативності, сучасність та інформативність використаних методів дослідження та адекватність статистичного аналізу дозволяють вважати результати дослідження, наукові положення, висновки достовірними та науково обґрунтованими.

Якщо розглянути докладно, то вірогідність отриманих результатів забезпечується:

- оптимальною тривалістю написання дисертаційної роботи (2019-2025 р.);
- необхідною кількістю задіяних у дослідженні об'єктів;
- використанням певного обсягу методів дослідження для вирішення поставлених задач: аналітичних (аналіз літературних джерел); фізіологічних (міографічний метод дослідження скоротливої функції ГМК кишок); гістологічних (світлова та електронна мікроскопія); статистичних.

використанням сучасних методів математичної статистики: вибірковий метод, параметрична описова статистика, параметричний критерій Стюдента для залежних та незалежних вибірок. Визначалися наступні показники: середнє арифметичне значення $\bar{x}$, середнє квадратичне відхилення S (стандартне відхилення), помилка репрезентативності m . Для перевірки гіпотези щодо належності вибірки до нормального закону розподілу використовували критерій Шапіро-Вілکا як найефективніший критерій нормальності.

Результати дослідів з реєстрації міограм ізольованих м'язових смужок стінки товстої кишки під впливом біологічно активних речовин, а саме – показники амплітуди і частоти базальних і спонтанних скорочень, були представлені як медіана Me та меж 25 % і 75 % кватилів, оскільки за критерієм Шапіро-Уїлка, не було доведено нормальність розподілу вибірки. Порівняльний аналіз між показниками контрольної і експериментальних груп в цій серії дослідів виконували за допомогою непараметричного критерію Краuskела-Уолліса і Манна-Уїтні.

У подальших дослідях з оцінки параметрів секреторної активності мастоцитів ПФЖ і брижі в умовах *in vivo* та *in vitro*, одержані результати відповідали закону нормального розподілу за критерієм Шапіро-Уїлка. Відповідним чином, у перевірці статистичних гіпотез щодо результатів цієї серії експериментів, перевірку достовірності здійснювали за допомогою t -критерію Стюдента.

Статистичну значущість відмінностей визначали за допомогою комп'ютерної програми IBM SPSS Statistics (версія 26), на рівні значущості $p=0,05$.

Оцінка структури, змісту та оформлення дисертації.

Структура дисертаційної роботи є традиційною, має логічну завершеність, матеріал викладено державною мовою, науковим стилем.

Дисертація складається з анотації, вступу, шести розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг роботи становить 239 сторінок. Дисертація містить

7 таблиць та 70 рисунків. Список використаних джерел включає 326 бібліографічних описів.

У **вступі** дисертант обґрунтовує актуальність теми дослідження, показує її зв'язок з державними науковими програмами, формулює мету та завдання роботи, визначає об'єкт та предмет дослідження, розкриває наукову новизну та практичну значущість отриманих результатів, наводить відомості щодо апробації результатів та публікацій, структури роботи.

У **аналітичному огляді літератури** дисертант проводить різнобічний та критичний аналіз наявних літературних джерел, присвячених проблематиці. У розділі надано відомості про морфофункціональну організацію гладеньких м'язів товстої кишки; види скорочень товстої кишки; особливості регуляції моторної функції товстої кишки; фізіологію мастоцитів; фізіологічну характеристику обраних для дослідження біологічно активних речовин. Матеріали цього розділу опубліковані у 3 працях автора.

Другий розділ містить відомості щодо методів та організації дослідження. В ньому відповідно до мети та завдань дослідження обґрунтовано використання методів дослідження, описано організацію дослідження. Застосовані методи дослідження є цілком загальноновизнаними, репрезентативними та сучасними, що дозволило дисертанту вирішити поставленні завдання і досягнути мети дослідження. Методики, застосовані для статистичної обробки, є цілком адекватними та дозволяють отримати вірогідні результати.

У **третьому розділі «Динаміка скоротливої активності сигмоподібної кишки під впливом біологічно активних речовин»** було проаналізовано особливості скоротливої активності препаратів сигмоподібної кишки у вихідному стані та динаміка скоротливої активності препаратів сигмоподібної кишки під впливом біологічно активних речовин.

Було показано, що всі обрані для дослідження біологічно активні речовини виявляють різноспрямований вплив на скоротливу діяльність препаратів м'язової смужки стінки товстої кишки. Виявлено, що флокаліну, форидону, суміші означених речовин і сполуці «С» властиві ефекти зниження рухової активності товстої кишки, а хлорид амонію, кверцетин і кофеїн проявили свою здатність до посилення моторики товстої кишки.

Було зроблено висновок, що максимальний ефект за ступенем прояву і тривалості серед речовин-міорелаксантів встановлено у сполуки «С», мінімальний – у флокаліну.

Показано, що серед стимуляторів рухової функції товстої кишки максимальна ефективність була притаманна кофеїну, мінімальна і найменш тривала – хлориду амонію.

Результати досліджень даного розділу представлено у 2 публікаціях.

У четвертому розділі «Вплив біологічно активних речовин на секреторну активність тучних клітин» автором проаналізовано вплив біологічно активних речовин на секреторну активність тучних клітин поверхневої фасції живота в умовах *in vivo* та *in vitro*, вплив біологічно активних речовин на секреторну активність тучних клітин брижі в умовах *in vivo* та *in vitro*. Розділ проілюстровано високоякісними зображеннями, отриманими методом світлової мікроскопії.

Проведені дослідження дозволили автору встановити наявність стимулюючого впливу флокаліну, фориidonу, суміші цих речовин, а також хлориду амонію, на процеси секреції мастоцитів. Максимальний ефект стимуляції дегрануляції тучних клітин в умовах нашого дослідження був зафіксований при застосуванні суміші флокаліну і фориidonу. Найменший ефект зареєстровано при застосуванні флокаліну. Ця тенденція була характерною як для препаратів поверхневої фасції живота, так і для брижі; причому зберігалася як для умов *in vivo*, так і *in vitro*.

Зареєстрований автором ефект кверцетину і кофеїну на секрецію тучних клітин відрізнявся прямо протилежно – під дією цих речовин ІД і ступень секреції зазнавали значного зниження. Ефект кофеїну при цьому переважав над впливом кверцетину для мастоцитів як брижі, так і поверхневої фасції живота в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Було встановлено, що найменший ступінь змін у секреції тучних клітин під впливом застосованих речовин було зареєстровано у препаратах поверхневої фасції живота, порівняно з препаратами брижі. Водночас, найбільшою мірою зміни у дегрануляції мастоцитів були виражені в умовах *in vitro*, порівняно з ефектом застосування обраних біологічно активних речовин в умовах *in vivo*.

Висунуто припущення, що модуляція скоротливої активності стінки товстої кишки під дією обраних для роботи біологічно активних речовин, певною мірою обумовлена впливом речовин, які виділяються мастоцитами поверхневої фасції живота і брижі.

Результати цього розділу представлені у 1 роботі автора.

У п'ятому розділі «Морфофункціональні процеси в структурах стінки товстої кишки під впливом біологічно активних речовин» здобувачем були виконано мікроскопічне дослідження препаратів стінки кишки, вивчення структури гладеньких м'язів товстої кишки під впливом

біологічно активних речовин. Автором було також проведено електронно-мікроскопічне дослідження кровоносних капілярів товстої кишки, мастоцитів брижі, яке також було проілюстровано якісними електронними мікрофотографіями.

Було показано, що при застосуванні окремо флокаліна і фторидона, а також їх суміші не було виявлено ознак токсичного впливу, встановлені зміни при застосуванні цих речовин носять реактивний оборотний характер і, за умов нашого експерименту, не призводять до розвитку необоротних явищ.

Аналіз мікро- і ультраструктури стінки товстої кишки при застосуванні хлориду амонію виявив ознаки лімфоцитарної інфільтрації, видозміни лімфоїдних фолікулів, наявність розпушення і ознаки набряку підслизової основи слизової оболонки, а також порушення бар'єрної функції капіляра, видозміни мембрани еритроцитів, маргінація гетерохроматину. Наявні зміни дозволяють припустити наявність у E510 ознак несприятливого впливу на морфофункціональні процеси в стінці товстої кишки. В реалізації ефектів NH_4Cl лежить участь медіаторів перитонеальних тучних клітин, імунних компонентів слизової оболонки кишки тощо.

Пошукувач виявив потужний активуючий вплив кверцетину на скорочувальну здатність препаратів м'язової смужки товстої кишки і дійшов до висновку, що реалізація ефектів кверцетину на морфофункціональні процеси структурних складових товстої кишки здійснюється без участі нервових і гуморальних впливів з боку ЦНС і системних гормонів, а може відбуватися за рахунок дії місцевих факторів.

Автор зробив цікавий висновок, про те що кофеїн за ступенем свого впливу на морфо-функціональні процеси структур стінки товстої кишки, виявив більш потужні ефекти порівняно з іншими стимуляторами скорочувальної активності гладеньких м'язів (E510 і кверцетином) і можливо, це пояснюється більшістю механізмів реалізації його ефектів, які опосередковані не лише модуляцією виділення гастроінтестинальних гормонів і медіаторів тучними клітинами, а й також зміною проникності мембран міоцитів для Ca^{++} , що не властиво для дії кверцетину і NH_4Cl .

Результати цього розділу представлені у 1 роботі автора.

В шостому розділі «Аналіз та обговорення результатів дослідження» дисертантом узагальнено результати проведеного дисертаційного дослідження, вказано на їх значущість, висвітлено та обговорено дискусійні питання.

Показано, що вперше встановлено наявність у флокаліну релаксуючої дії щодо скорочувальної діяльності препаратів ізольованої м'язової смужки стінки товстої кишки. Описано загальний вплив флокаліну на

морфофункціональні особливості товстої кишки. Висуното гіпотезу, згідно котрої флокалін може стати ефективним засобом не лише як гіпотензивний препарат, а і як потенційний модулятор моторної функції товстої кишки в комплексній терапії осіб з діарезою, синдромом подразненої кишки, дисбіозом та іншими станами, що супроводжуються посиленою моторикою дистальних відділів ШКТ.

Проаналізовано вплив фориidonу на морфофункціональні особливості товстої кишки і зазначено, що встановлено наявність у фориidonу (фторвмісного аналога ніфедипину) міорелаксуючої дії стосовно гладеньких міоцитів стінки товстої кишки і що за умов блокади кальцієвих каналів фориidonом посилення кальцієвої проникності з позаклітинного середовища стає значно обмеженим і навіть припиняється. Висуното припущення, що посилення дегрануляції мастоцитів під впливом фориidonу може мати своєрідний компенсаторний характер, а також що цьому блокатору кальцієвих каналів не властиві шкідливі побічні ефекти щодо тканин товстої кишки.

Також підсумовано результати щодо впливу суміші флокаліну і фориidonу на морфофункціональні особливості товстої кишки та виявлено ознаки впливу суміші флокаліну і фориidonу як міотропного спазмолітика також по відношенню до кровоносних судин мікроциркуляторного русла стінки товстої кишки.

Проаналізовано вплив хлориду амонію на морфофункціональні особливості товстої кишки і показано, що стимуляція скорочень стінки товстої кишки і стінки кровоносних судин під дією E510 виникає, скоріше за все, як реактивна термінова захисна відповідь на токсичний вплив означеної сполуки. В реалізації ефектів NH_4Cl лежить участь медіаторів перитонеальних мастоцитів, імунних компонентах слизової оболонки кишки.

Проаналізовано результати впливу кверцетину на морфофункціональні особливості товстої кишки і показано, що актуальність і необхідність проведення наших дослідів з вивчення ефектів кверцетину визначалася суперечливістю наукових відомостей стосовно впливу означеного біофлавоноїду на рухову функцію травного тракту.

Також описано результати дослідження вивчення ефектів кверцетину визначалася суперечливістю наукових відомостей стосовно впливу означеного біофлавоноїду на рухову функцію травного тракту.

Було підсумовано отримані дані щодо впливу кофеїну на морфофункціональні особливості товстої кишки, котрі показали потужну стимулюючу дію кофеїну на скоротливу діяльність м'язів стінки товстої кишки, яка підтверджена як на макрорівні, так і на рівні мікроструктури.

Таким чином, було зроблене припущення, що кофеїн впливає на діяльність гладеньких м'язів товстої кишки не лише опосередковано через модуляцію виділення гастроінтестинальних гормонів, а і внаслідок обмеження викиду медіаторів мастоцитів.

Пошукувачем показано, які результати доповнюють та підтверджують результати досліджень інших авторів. Представлено результати, які мають наукову новизну в якості отриманих вперше. Аналіз та узагальнення зроблені на високому фаховому рівні.

Висновки, зроблені у роботі, є логічними і послідовними, відображають реалізацію поставлених завдань, містять найбільш важливі наукові і практичні результати, одержані в дисертації, та необхідний цифровий матеріал.

Повнота викладення наукових положень, висновків здобувачки у наукових працях.

Наукові результати дисертації висвітлені в 7 наукових публікаціях: 5 статей у наукових виданнях з переліку наукових фахових видань України, 2 публікації апробаційного характеру.

Зауваження та недоліки дисертації щодо її змісту і оформлення.

Суттєвих зауважень до змісту та оформлення дисертаційної роботи в цілому немає. Позитивно оцінюючи дисертацію Киричека П. В., можна зазначити деякі зауваження, побажання і дискусійні питання, які не впливають на загальну позитивну оцінку.

1. Слід вказати на наявність стилістичних та смислових помилок та неточностей у тексті дисертації на кшталт «репродуктивний період онтогенезу», котрий зовсім не вказує на вік тварин.

2. Хотілося б з'ясувати чим обумовлений широкий набір саме означених в дисертації біологічно активних речовин обраний для проведення дослідження.

3. Пояснить, будь ласка, більш докладно механізм впливу флокаліну на модуляцію активності K_{atf} -каналів, уточнить саме яких K_{atf} -каналів, котрі впливають на зниження базальної і спонтанної рухової активності стінки м'язових тканин товстої кишки. Чи зберігається такий ефект при дії суміші флокаліну і фторидону?

Висновок.

Дисертаційна робота Киричека Павла Володимировича за темою «**Морфофункціональні особливості гладеньких м'язів товстої кишки за умов впливу екзогенних біологічно активних речовин**» є завершеною науковою працею, в якій отримані нові, науково обґрунтовані дані. Основні результати дисертаційної роботи повністю висвітлені в наукових працях,

опублікованих у фахових виданнях. За актуальністю, обсягом дослідження, рівнем методичного забезпечення до розв'язання поставлених завдань, науковою новизною, теоретичною та практичною цінністю та відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, та наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з Наказом МОН України № 759 від 31.05.2019 р.), а її автор Киричек Павло Володимирович заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент:

доктор біологічних наук,
провідний науковий співробітник
відділу гіпоксії Інституту фізіології
ім. О.О. Богомольця НАН України



Катерина РОЗОВА

Підпис Катерини РОЗОВОЇ засвідчую.
Заступник директора Інституту
член-корр. НАН України



Олена ЛУК'ЯНЕЦЬ