

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Єлінської Аліни Миколаївни «NO- та NF-κB-залежні механізми ураження слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому», подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 у Сумському державному університеті МОН України

Актуальність обраної теми. Праця А.М. Єлінської присвячена актуальній проблемі патологічної фізіології та медицини загалом – механізмам метаболічного синдрому (МС), функціонально-метаболічним порушенням в органах та тканинах при ньому. Метою дослідження стало з'ясування молекулярних механізмів функціонально-метаболічних розладів у піднижньощелепних слинних залозах (СЗ) щурів за умов відтворення МС, а саме ролі компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриду) та транскрипційного ядерного фактора κB.

Зарубіжні та вітчизняні дослідники, а також експерти Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) характеризують МС як пандемію XXI ст. Серед населення економічно розвинених країн, за даними різних авторів, поширеність МС становить від 25 до 40%. На сьогодні реєструється «омолоджування» цієї патології. Так, частота розвитку МС у підлітків і осіб молодого віку підвищилася за останні 60 років у 1,5 рази.

Клінічні дослідження останніх років доводять, що у хворих з МС, окрім загальноприйнятих його складових (інсулінорезистентність, абдомінальне ожиріння, артеріальна гіпертензія, порушення обміну ліпідів, системна запальна відповідь тощо), виявляється розвиток реактивно-дистрофічних уражень слинних залоз (СЗ). Проте патогенез цих розладів залишається нез'ясованим.

У наш час все більше підіймається питання, чи є МС простим «кластером» факторів ризику розвитку цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних захворювань, як це постулюється в останніх міжнародних рекомендаціях, чи в основі його патогенезу дійсно існує спільний компонент? Вочевидь, розв'язання цього питання полягає у з'ясуванні молекулярних механізмів, що лежать в основі цієї патології. Зокрема, на роль загальної ланки, яка об'єднує всі компоненти МС, претендує активація транскрипційного ядерного фактора κB (NF-κB), яка знаходиться у тісному патогенетичному зв'язку з системою оксиду азоту (NO).

Проте участь компонентів системи NO та NF-κB-залежних процесів у патогенезі ушкоджень СЗ за умов МС залишається нез'ясованою, що вказує на безперечну актуальність та своєчасність дисертаційного дослідження автора.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Вищого державного

навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України.

Ступінь обґрунтованості та вірогідності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота виконана на достатній для досягнення мети та вирішення завдань дослідження кількості лабораторних тварин – 85 щурах лінії Вістар.

Досліди на тваринах проводили згідно з вимогами гуманного ставлення до них. Вилучення СЗ для дослідження та евтаназію тварин здійснювали під наркозом.

Тварини були розподілені на 8 серій відповідно до завдань дослідження. Виконані необхідні контрольні дослідження.

У роботі використані патофізіологічні та біохімічні методи дослідження. Усі методи є сучасними, високоінформативними, відтворюваними та адекватними поставленим завданням.

Усі дані піддані статистичній обробці з використанням сучасних, інформативних та відповідних завданням параметричних та непараметричних методів математичної статистики.

Наукові положення, висновки та рекомендації впливають безпосередньо з результатів, отриманих автором.

Таким чином, наукові положення, висновки та рекомендації, сформульовані в дисертації, є обґрунтованими та вірогідними.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у тому, що автором з'ясовано закономірності змін окисного (NO-синтазного, головним чином, за рахунок гіперактивації індукцйбельної NO-синтази, iNOS) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну у тканинах СЗ при відтворенні МС. Вперше виявлено за цих умов посилення загального фону продукції супероксидного аніон-радикала (O_2^-) та його генерації мітохондріальним і НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікросомальним і NOS) з подальшою активацією процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і зниженням антиоксидантного (АО) потенціалу. Пригнічення iNOS супроводжується у піднижньощелепних СЗ активацією конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що виявляється у збільшенні активності орнітиндекарбоксилази.

Вперше виявлено, що функціональна активність нейрональної NO-синтази (nNOS) за умов експериментального МС зменшує у тканинах піднижньощелепних СЗ продукцію O_2^- НАДФН- і НАДН-залежним електронно-транспортними ланцюгами, обмежує активацію ПОЛ, але знижує активність каталази та істотно не позначається на стані АО потенціалу. Функціонування nNOS за умов

відтворення МС сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних СЗ.

Показано, що введення щурам екзогенного L-аргініну під час відтворення МС не супроводжується феноменом «аргінінового парадоксу» при оцінці активності NOS у тканинах піднижньощелепних СЗ щурів, але оптимізує функціонування неокисного (аргіназного) шляху метаболізму цієї амінокислоти, знижує продукцію у тканинах СЗ O_2^- НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами.

Вперше виявлено, що дисбаланс NOS та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та активація вільнорадикальних реакцій у тканинах піднижньощелепних СЗ за умов експериментального МС є пероксинітрит- та NF- κ B-залежними процесами. Введення щурам скевенджеру пероксинітриту L-селенометіоніну та інгібіторів активації NF- κ B JSH-23 та метформіну гідрохлориду під час відтворення МС знижує у тканинах СЗ активність NOS, продукцію O_2^- НАДФН-залежними і НАДН-залежним (мітохондріальним) електронно-транспортними ланцюгами, обмежує активність ПОЛ і підвищує стан АО захисту. Призначення L-селенометіоніну та інгібітора ядерної транслокації NF- κ B JSH-23 за умов експерименту покращує білоксинтезуючу функцію піднижньощелепних СЗ, що не є характерним при застосуванні метформіну гідрохлориду.

Практичне значення одержаних результатів і можливі шляхи їх використання. Робота носить фундаментальний характер. Отримані результати розширюють та поглиблюють існуючі уявлення про патогенез МС, функціонально-метаболичні порушення в органах і тканинах при ньому за рахунок даних про роль компонентів системи оксиду азоту та транскрипційного ядерного фактора κ B у патогенезі функціонально-метаболичних розладів у піднижньощелепних СЗ в щурів за умов відтворення МС.

Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції дисфункції СЗ за умов МС засобами, що впливають на активність ізоформ NOS і NF- κ B-сигналізацію, а також як експериментальне обґрунтування доцільності проведення подальших клінічних досліджень ефективності застосування L-селенометіоніну та інгібіторів активації NF- κ B як перспективних засобів корекції функціонально-метаболичного стану СЗ за умов МС.

Автором розроблений спосіб експериментального моделювання МС, на що отриманий патент України на корисну модель.

Результати роботи впроваджено в наукову та навчальну роботу низки вищих медичних та фармацевтичного навчальних закладів України.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. За темою дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них 5 статей

у фахових виданнях, що входять до переліку МОН України, 1 стаття у фаховому журналі за кордоном (Республіка Білорусь), 7 робіт – у матеріалах конгресів і конференцій. Автором одержано 1 патент України на корисну модель. У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи.

Матеріали дисертації апробовано на міжнародних і всеукраїнських наукових конференціях.

Автореферат дисертації за змістом та формою відповідає вимогам МОН України і містить усі основні положення дисертації.

Оцінка змісту дисертації. Дисертацію побудовано за класичною схемою. Вона містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 5 розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаної літератури. Дисертація викладена на 156 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 30 таблицями та 1 рисунком.

У вступі наявні усі необхідні рубрики. Зміст рубрик сформульовано чітко та повно.

Огляд літератури займає 25 сторінок, містить 3 підрозділи. Він присвячений спільним NO та NF-кВ-залежним механізмам розвитку МС та дисфункції СЗ ссавців. У ньому розглядаються питання про сутність МС, взаємозв'язок патологічних змін у тканинах СЗ із системними метаболічними розладами, роль оксиду азоту та транскрипційного ядерного фактора кВ у патогенезі системних метаболічних розладів і дисфункції СЗ. Таким чином, огляд літератури за змістом повністю відповідає темі, меті та завданням дисертації. Він написаний на сучасному високому науковому рівні, аналітично, стисло, цікаво, легко сприймається. Поряд з аналізом даних світової літератури у ньому наведено власні думки автора з питань, що розглядаються. До огляду залучено велику кількість останніх основних джерел літератури з досліджуваної наукової проблеми та теми дисертації.

У розділі опису матеріалів і методів дослідження наведено постановку роботи, методи відтворення МС, фармакологічної модуляції активності NO-синтаз та NF-кВ, біохімічні методи дослідження та методи статистичної обробки результатів. Розділ написаний послідовно, конкретно, точно. З нього добре зрозуміла суть роботи та уявляється хід експерименту.

3 розділу 3 розпочинається викладення результатів власних досліджень. Цей розділ присвячений змінам окислювальних процесів та функції СЗ за умов відтворення експериментального МС. Він складається з 4-х підрозділів, у яких наведено дані про зміни активності NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в піднижньощелепних СЗ щурів при МС, продукції супероксидного аніон-радикала, процесів ПОЛ та АО захисту, активності α -амілази.

Розділ 4 стосується ролі ізоформ NO-синтаз у патогенезі порушень

окислювальних процесів та функції СЗ за умов МС. Тут надані дані про вплив інгібіторів NOS на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, продукцію супероксидного аніон-радикала, процеси ПОЛ та АО захисту, активність α -амілази.

У розділі 5 наведено результати дослідження впливу субстрату NOS на окислювальні процеси та функцію СЗ при МС. Вони вбирають вплив L-аргініну на активність його NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму, продукцію супероксидного аніон-радикала, процеси ПОЛ та АО захисту, активність α -амілази.

Розділ 6 висвітлює дані про роль пероксинітриду у патогенезі порушень окислювальних процесів та функції СЗ за умов МС. Тут наведені результати досліджень впливу скевенджера пероксинітриду L-селенометіоніну на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, продукцію супероксидного аніон-радикала, процеси ПОЛ та АО захисту, активність α -амілази.

Розділ 7 присвячений ролі NF- κ B у механізмах порушень окислювальних процесів та функції СЗ за МС. У ньому надано результати про вплив інгібіторів NF- κ B на активність NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, продукцію супероксидного аніон-радикала, процеси ПОЛ та АО захисту, активність α -амілази.

Конкретні результати власних досліджень охарактеризовані вище при оцінці наукової новизни. Позитивно, що розділи результатів власних досліджень написані за однією схемою, що значно спрощує сприйняття досить об'ємного та складного матеріалу.

Розділ 8 присвячений аналізу та узагальненню результатів дослідження. Він викладений на 13 сторінках, написаний добре, з детальним аналізом, узагальненням та широким обговоренням отриманих результатів із залученням великої кількості літературних джерел.

Висновки, яких 8, конкретні, значні та, як вже зазначалося, повністю випливають з отриманих результатів.

Дисертація закінчується двома конкретними практичними рекомендаціями, про суть яких йшлося вище при оцінці практичного значення роботи і які теж повністю випливають з отриманих результатів.

Список літератури складається з 289 джерел, з яких 113 кирилицею та 176 латиницею. Він займає 34 сторінки. Більшість робіт виконані в останні 10 років, отже робота є сучасною.

Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації та автореферату. Принципових зауважень до змісту та оформлення дисертації та автореферату немає. Робота грамотно спланована, реалізована, написана з наукової і мовної точок зору та добре оформлена.

Є незначні зауваження рекомендаційного та редакційного характеру:

1. У розділі 2.3. «Методика зміни режимів функціонування NO-синтаз та активності NF-κB» бажано було б обґрунтувати періодичність введення щуром інгібіторів NO-синтаз та NF-κB.

2. Добре було б, окрім таблиць, ілюструвати роботу діаграмами, що сприяло б кращому сприйняттю матеріалу, особливо при порівнянні ефектів селективних інгібіторів різних ізоформ NO-синтаз.

3. У роботі досліджено два головних шляхи утворення супероксидного аніон-радикала (мітохондріальний та мікосомальний). За умов запалення важливим джерелом цієї сполуки є НАДФН-оксидаза лейкоцитів, внесок якої також доцільно проаналізувати у подальшій науковій роботі.

Вказані зауваження не торкаються засад роботи і жодним чином не впливають на високу оцінку дисертації.

У порядку наукової дискусії хотілося б почути про точку зору дисертанта на такі запитання:

1. Чому інгібітори NO-синтаз, L-селенометіонін та інгібітор активації NF-κB JSH-23 Ви вводили 2 рази на тиждень протягом експерименту, а метформіну гідрохлорид – через день?

2. Яким чином, на Вашу думку, індукбельна NO-синтаза збільшує продукцію супероксидного аніон-радикала, а нейрональна, навпаки, зменшує його вироблення в тканинах слинних залоз за умов відтворення метаболічного синдрому?

3. Яким чином, на Ваш погляд, L-аргінін обмежує продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікосомальним і NO-синтазним) за умов відтворення метаболічного синдрому, якщо ця амінокислота є субстратом індукбельної NO-синтази, з функціонуванням якої пов'язано збільшення утворення названого радикала?

Вказані запитання є суто дискусійними і аж ніяк не зменшують наукову цінність дисертації.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота А.М. Єлінської «NO- та NF-κB-залежні механізми ураження слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому» є завершеною кваліфікаційною науково-дослідною працею, що містить нові науково обґрунтовані результати проведених особисто здобувачем досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медичної галузі науки, зокрема для патофізіології, і полягає у з'ясуванні ролі компонентів системи оксиду азоту та транскрипційного ядерного фактора κB у патогенезі функціонально-метаболічних розладів у піднижньощелепних слинних залозах щурів за умов відтворення метаболічного синдрому.

Таким чином, дисертація повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого

наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, відносно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її автор цілком заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

зав. кафедри клінічної патофізіології,
топографічної анатомії та оперативної хірургії
Харківської медичної академії
післядипломної освіти МОЗ України
доктор медичних наук, професор

Підпис _____ засвідчує _____ М.О. Клименко
Вчений секретар _____

