

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Київської Юлії Олександрівни на тему: "Прооксидантно-антиоксидантні та імунні механізми при експериментальних ринітах різного генезу та патогенетичне обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів", представлену до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 55.051.05 Сумського державного університету МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

**Актуальність теми дисертації.** Поширеність риносинуситів в світі складає 6–15% в залежності від параметрів дослідження. У дорослих відмічається від двох до п'яти епізодів гострого риносинуситу на рік, а діти шкільного віку можуть хворіти від семи до десяти разів на рік. В Україні поширеність гострих ринітів, риносинуситів та ринофарингітів складає майже 500 випадків на 10 000 населення. Такі хворі становлять 60–65% амбулаторних пацієнтів оториноларингологів, а діагноз гострий риносинусит встановлюється у 25% випадків серед двадцяти діагнозів, що найбільш часто встановлюються оториноларингологами. Небезпечними можуть бути й наслідки запального процесу носової порожнини, а саме запалення тканин орбіти, орбітальний абсцес, остит і остеомієліт стінок пазухи, тромбоз кавернозного синусу, менінгіт, абсцес мозку. Незважаючи на всебічне дослідження ролі імунної системи у різних етапах запалення, патогенетичні механізми імунних реакцій, їх регуляція в умовах розвитку запальних захворювань вивчені недостатньо. Тому, дисертаційна робота Київської Юлії Олександрівни, спрямована на розкриття імунних та прооксидантно-антиоксидантних механізмів розвитку ринітів та їх особливостей залежно від генезу є актуальним та своєчасним дослідженням.

**Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження.**

*Наукова новизна* проведеної роботи полягає в тому, що автором доведені достовірні некомпенсовані зміни показників місцевого імунітету слизової оболонки носу та гуморального вродженого імунітету у інтраназальних

змивах та сироватці крові на моделях хімічного та бактеріального ринітів. Встановлено, що застосування місцевих лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями – гелю «Імбирол» (розробленого за участю дисертанта) та мазі «Піносол» - обумовлює потужний нормалізуючий вплив на перебіг хімічної травми та бактеріального запалення на місцевому та загальному рівнях за показниками активності ПОЛ та АОЗ. Достовірно встановлено розвиток некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін у різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу на моделях хімічного та бактеріального ринітів у експериментальних тварин. Застосування місцевих лікувальних засобів знижує виразність вказаних морфологічних ознак риніту, при цьому активність гелю «Імбирол» перевищувала ступінь впливу мазі «Піносол» на моделі хімічного риніту за ознаками місцевого (зменшення гіперемії, набряку, секреції), і резорбтивного (загальнотрофічні процеси, падіння маси тіла, підвищення температури тіла) впливу. Всі вперше отримані дані дозволяють стверджувати, що застосування природних антиоксидантів відіграє суттєву роль у патогенезі різних видів риніту.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена інформаційним листом №141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу».

*Теоретичне значення* роботи полягає в тому, що дані отримані в ній за експериментальних умов при відтворенні хімічного та бактеріального риніту поглиблюють і розширюють сучасні погляди на патогенез цього захворювання.

*Практичне значення* отриманих результатів полягає у запропонованому автором застосуванні місцевих антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» у якості патогенетичних коректорів ринітів різного генезу.

Окремі фрагменти наукових досліджень упроваджено у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Національного фармацевтичного

університету, Харківського національного медичного університету; кафедрі анатомії, гістології, клінічної анатомії і оперативної хірургії Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі патологічної фізіології і ЦНДЛ Буковинського державного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету.

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертаційна робота О. Ю. Київської є ґрунтовним, цілісним дослідженням. Завдання дослідження цілком відповідають поставленій меті. Побудова та організація роботи логічні та послідовні. Сформульовані Ю.О. Київською наукові положення, узагальнення та висновки базуються на достатній кількості спостережень: 208 безпородних щурів-самців. У дослідженнях застосовані сучасні об'єктивні методики, які є адекватними поставленим завданням. При виконанні дисертаційної роботи використовувався комплексний методичний підхід із залученням патофізіологічних, біохімічних, імунологічних, гістологічних та статистичних методів дослідження. У роботі використано 2 експериментальні моделі та 21 метод дослідження, вибір яких є достатнім та інформативним для вирішення поставлених завдань і дозволив вирішити поставлені задачі на сучасному методичному рівні, що дало можливість автору отримати вірогідні результати та зробити обґрунтовані висновки.

Достовірність наукових положень захищено аналітичними методами статистики. Аналіз та статистичну обробку отриманих результатів проводили із використанням стандартних пакетів програм «Excel» (2007) і «Statistica, v. 6,0». Зв'язок між кількісними показниками оцінювався за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона. Визначення виду розподілу ознаки в виборці проводили з використанням критерію Шапіро-Уїлкі, а рівність дисперсій розподілу ознак в групах – за допомогою критерію Левена. Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом використовували параметричний однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) і застосовували метод

Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, а в інших випадках – ранговий аналіз варіацій по Крускала-Уолліса. Результати виконаного статистичного аналізу підкріплюються 26 рисунками і 39 таблицями. Висновки логічні, впливають з матеріалів дослідження, чітко сформульовані, конкретні, відповідають поставленим завданням.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності із планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету («Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (НДР №0103U000478, 2014-2018 рр.) та «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» НДР № 0114U000945, 2014-2018 рр.) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України. Дисертант був співвиконавцем зазначеної теми.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота оформлена згідно вимог ДАК МОН України (Наказ МОН України від 12.01.2017 р. №40) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів роботи, висновків і списку літератури, що налічує 204 бібліографічні описи (6% – кирилицею, 94% – латиницею). Мова дисертації – українська. Загальний обсяг роботи 231 сторінка комп'ютерного машинопису (основний текст – 200 сторінок). У анотації українською і англійською мовами наведений стислий зміст роботи, ключові слова та перелік публікацій дисертантки. У вступі витримані всі необхідні пункти.

**Розділ 1** «Сучасні аспекти етіології і патогенезу ринітів та застосування лікарських препаратів місцевої дії з антиоксидантною активністю для їх лікування» присвячений аналізу даних літератури і складається із 2 підрозділів. Автор розглянув імунологічні механізми та патогенетичні особливості розвитку окиснювального стресу при запаленні слизової

оболонки. На підставі літературних джерел встановлено, що поряд із змінами імунологічної відповіді на пошкодження слизової оболонки носових шляхів при риніті у тканині відбуваються комплексні зміни прооксидантно-антиоксидантного статусу. Розглянуті загальні принципи лікування ринітів, визначено роль натуральних сполук як засобів з антиоксидантною та протизапальною активністю, наголошено, що антиоксиданти на основі натуральних речовин є одним із найцінніших терапевтичних засобів для лікування хвороб, спричинених оксидативним стресом. Визначається, що перспективними компонентами для розробки таких засобів можуть бути ефірні олії з протизапальною та антиоксидантною дією.

У **розділі 2** «Матеріали та методи дослідження» була сформульована та теоретично обґрунтована загальна концепція дослідження особливостей прооксидантно-антиоксидантних та імунологічних механізмів при експериментальних ринітах різного генезу та патогенетичного обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів. Описано методики патофізіологічних, біохімічних, імунологічних та гістологічних досліджень. Усього у роботі було використано 2 експериментальні моделі та 21 метод дослідження.

Наступні шість розділів були присвячені результатам власних досліджень дисертанта.

**Розділ 3** «Порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при експериментальних ринітах різного генезу» містить експериментальні дані, що підтверджують важливе значення порушень в системі ПОЛ/АОЗ у розвитку риніту. Автором доведено розвиток оксидативного стресу при моделюванні хімічного та бактеріального риніту протягом усього періоду спостереження на місцевому та загальному рівнях. Достовірно встановлено високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ при різних видах ринітів. Показано, що до кінця терміну спостереження потужність компенсаторних механізмів була недостатньою, що проявлялося високим коефіцієнтом оксидативного стресу при обох видах ринітів на місцевому та системному рівнях. Ступінь

порушення системи ПОЛ та АОЗ був більш виражений при бактеріальному експериментальному риніті на системному рівні у порівнянні з хімічним ринітом.

**У розділі 4** «Дослідження імунного статусу щурів з експериментальним ринітом різного генезу» було встановлено, що у патогенезі обох експериментальних ринітів важливо роль належить порушенням з боку клітинної та гуморальної ланок неспецифічного імунітету як на місцевому, так і системному рівнях. Ступінь дисбалансу в імунній системі була вищою при моделюванні бактеріального риніту, що характеризувався більш значно вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту за рахунок «метаболічного вибуху» - у 1,2 рази порівняно з хімічним ринітом, більш вираженим пригніченням інших досліджуваних показників неспецифічної імунної відповіді. Такий перебіг бактеріального риніту у порівнянні з хімічним свідчить, на думку автора, про більш інтенсивний запальний процес та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ протягом спостереження. Встановлено, що гіперметаболічна активність нейтрофілів на моделях експериментальних ринітів приводила, з одного боку, до виділення вільних форм кисню та розвитку оксидативного стресу, а з іншого, - викликала пригнічення показників лізоциму, ФІ, ФЧ, НК, ГЛ, ГА, що приводило до незавершеності запалення в слизовій оболонці та неспроможності самостійного відновлення активності імунної системи.

**Розділ 5** «Вплив антиоксидантів на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при експериментальних ринітах різного генезу» містить дані про зміни стану системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту за умов застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» при експериментальному хімічному та бактеріальному риніті. Отримані результати доводять позитивний вплив природних антиоксидантів при місцевому застосуванні на відновлення декомпенсованого

прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа та сироватки крові в умовах експериментального риніту різного генезу.

У розділі 6 «Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному бактеріальному риніті за умов застосування місцевих антиоксидантів (гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»)» встановлено, що застосування антиоксидантів місцевої дії з лікувальною метою на тлі відтворення експериментального гострого хімічного та бактеріального риніту у щурів приводить до суттєвого поліпшення перебігу запального процесу. Лікувальний ефект гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» з антиоксидантними властивостями відбувався за рахунок позитивного впливу на стан показників клітинної та гуморальної неспецифічної резистентності як на місцевому, так і на системному рівнях. Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що застосування засобів з антиоксидантною активністю приводило до повної компенсації недостатності клітинного та гуморального імунітету у щурів із експериментальним ринітом різного генезу.

У розділі 7 «Гістологічне дослідження ефективності використовуваних антиоксидантів при експериментальних ринітах різного генезу» доведено, що відтворення експериментального хімічного риніту призводить до розвитку некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін у різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу, проліферативної запальної реакції у власній пластинці, гіперсекреції епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару. Встановлено, що наведена мікроскопічна картина близька до такої при травматичному риніті людини. Установлено, що відтворення експериментального бактеріального риніту за допомогою *Staphylococcus aureus* призводить до розвитку низки патологічних змін у слизовій оболонці дихальної порожнини носу: вогнищевій деструкції епітелію, гіперплазії та гіперсекреції келихоподібних клітин, виразної запальної реакції у власній пластинці слизової оболонки та у підслизовому шарі, повнокровності судин різного калібру, гіперпродукції слизу залозами

підслизового шару, що спостерігалися на 14-й день експерименту. Наведена мікроскопічна картина близька до такої при бактеріальному риніті людини.

Доведено позитивний лікувальний вплив застосування місцевих засобів з антиоксидантною дією – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» - на тлі хімічного опіку у щурів: зменшувалися альтеративні прояви в епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз, прискорювався регенераторний процес у пошкодженому епітелії, що приводило до формування типового багаторядного миготливого епітелію вже на 7-й день досліду.

Встановлено позитивний лікувальний вплив застосування місцевих засобів з антиоксидантною дією – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» - на тлі бактеріального риніту у щурів: зменшувалися альтеративні прояви в епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз до норми до 14-ї доби спостереження.

У розділі 8 «Дослідження ефективності використовуваних антиоксидантів за клінічними ознаками при експериментальному хімічному риніті» було доведено, що відтворення риніту шляхом експериментального моделювання хімічного ураження слизової оболонки носа у щурів призводить до виникнення не тільки низки патологічних змін у слизовій оболонці дихальної порожнини носу (гіперемії і набряку м'яких тканин носа, появи слизистих та слизисто-гнійних виділень), але і загальних клінічних ознак запального процесу (падіння маси тіла до 3-ї доби та достовірне підвищення температури тіла). Застосування засобів з антиоксидантною дією - гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» - обумовлювало виражену протизапальну активність, яка проявляється як місцевим впливом на уражену слизову оболонку, так і загальним – на загальнотрофічні процеси в організмі експериментальних тварин.



**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.** За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, серед яких 7 статей (5 - у наукових фахових виданнях, що входять до затвердженого переліку ДАК України, 2 – у виданнях інших держав), 5 тез доповідей – у матеріалах наукових конференцій, у тому числі і міжнародного рівня та 1 інформаційний лист. Сукупність усіх публікацій у повній мірі відображає викладені в дисертації результати дослідження. Зміст анотації є ідентичним основним положенням дисертації. Автореферат дисертації за змістом та формою відповідає вимогам ДАК України і повністю відображає основний зміст дисертації.

#### **Дискусійні питання та зауваження.**

У процесі ознайомлення з роботою виникли такі *зауваження*:

1. Робота містить велику кількість скорочень, проте не всі скорочення дані у списку на початку дисертації.
2. У авторефераті викладення власних результатів в основному проводиться у вигляді тексту. Використання таблиць і, рисунків значно спростило б сприйняття інформації.
3. У роботі зустрічаються застарілі посилання і невідповідність між джерелами у тексті дисертації і списку літератури.
4. У роботі не зазначено, використані Вами моделі хімічного та бактеріального риніту є загальноприйнятими (тоді хто їх автори?) чи Вашими авторськими моделями? За якими критеріями Ви визначали відтворюваність моделі в експерименті?

Хотілося б почути відповіді дисертанта на наступні *запитання*:

1. Які патогенетичні кола у розвитку риніту Ви дослідили експериментальним шляхом та чому застосування засобів з антиоксидантними властивостями мало виражений позитивний вплив?
2. Які відмінності перебігу стану клітинного та гуморального імунітету при експериментальних хімічному та бактеріальному ринітах Ви виявили та чим

обумовлений позитивний вплив місцевих антиоксидантів гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на цих моделях?

**Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Київської Юлії Олександрівни на тему: "Прооксидантно-антиоксидантні та імунні механізми при експериментальних ринітах різного генезу та патогенетичне обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів", що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія є завершеною науково-дослідною роботою, яка містить нові науково обґрунтовані результати, щодо ролі прооксидантно-антиоксидантних та імунних механізмів у розвитку різних видів риніту, що має важливе значення для сучасної патофізіології та оториноларінгології. За актуальністю теми, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням одержаних результатів дисертація повністю відповідає вимогам п.11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами та доповненнями, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 і №567 від 27.07.2016), а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент,  
професор кафедри фізіології і патофізіології  
з курсом медичної біології Сумського  
державного університету,  
доктор біологічних наук, професор



В.Ю. Гарбузова

