

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 спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

1. Актуальність обраної теми дисертації

Всесвітня організація охорони здоров'я вважає метаболічний синдром «глобальною епідемією» сучасності. Розрахунки експертів припускають, що до 2025 року число страждаючих цією недугою в усьому світі становитиме 300 млн. чоловік. За даними статистики, з такою проблемою стикається 20% людей середнього і літнього віку, і ці цифри неухильно зростають з кожним роком.

Метаболічний синдром розвивається внаслідок поєднання генетичних факторів і стилю життя. Зниження фізичної активності та високовуглеводний характер харчування є головними причинами того що захворюваність метаболічним синдромом здобуває характер епідемії, але до теперішнього часу немає єдиної думки про першопричину та патогенез метаболічних порушень при ньому.

В останні роки виявлено, що у хворих з метаболічним синдромом окрім загальноприйнятих його складових (інсулінорезистентність, вісцеральне ожиріння, артеріальна гіпертензія, порушення обміну ліпідів, системна прозапальна відповідь та ін.) розвивається реактивно-дистрофічне ураження слинних залоз з порушенням їхньої функції, а виразність клінічних проявів сіалоаденоза корелює з тяжкістю перебігу метаболічного синдрому. Нещодавно висунуто припущення, що загальною ланкою патогенезу, яка об'єднує всі компоненти метаболічного синдрому, є порушення сигналізації, пов'язаної з активацією ядерного транскрипційного фактора κB (NF-κB).

Проте участь компонентів системи NO та NF-κB-залежних процесів у патогенезі ушкоджень слинних залоз за умов метаболічного синдрому

залишається нез'ясованою. Розв'язання цього питання є важливим для розробки нових медичних технологій попередження та лікування розладів слинних залоз при дії факторів-ініціаторів розвитку метаболічного синдрому.

У зв'язку з цим дисертаційне дослідження Єлінської Аліни Миколаївни є актуальним і своєчасним як у науковому, так і в практичному аспектах.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№ держреєстрації 0108U010079) та «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941). Дисертантка є співвиконавцем теми.

3. Загальні відомості про роботу

Дисертація написана українською мовою на 156 сторінках комп'ютерного набору та складається зі вступу, огляду літератури, 5-ти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних першоджерел. Робота ілюстрована 30 таблицями та 1 рисунком. Список використаних першоджерел включає 289 посилань: 113 кирилицею та 176 латиницею.

Характеристика змісту роботи.

У *вступі* відображено актуальність теми, сформульовано мету та завдання дослідження, визначено наукову новизну роботи та її практичне значення.

Огляд літератури, викладений на 25 сторінках тексту, охоплює достатню кількість літературних джерел. В цьому розділі висвітлено сучасні уявлення про метаболічний синдром як дизрегуляторну патологію, взаємозв'язок патологічних змін у слинних залозах із системними

метаболическими расстройствами, роль оксида азота та транскрипційного ядерного фактора κB у патогенезі системних метаболічних розладів і дисфункції слинних залоз. Зміст цього розділу показує, що автор має достатні знання та спроможна кваліфіковано аналізувати інформацію літературних джерел зі свого наукового напрямку. Виділені основні проблеми, які недостатньо вивчені. Автор розкрила свою обізнаність у питанні, якому присвячена дисертаційна робота. Мета і завдання дослідження є логічними висновками основних положень огляду літератури.

Другий розділ – матеріали і методи досліджень викладено повно. Результати наукових досліджень підлягали статистичній обробці за допомогою наведених автором стандартних методів. Зауважень до цього розділу не виникло.

Розділ 3 присвячений дослідженню показників активності NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, продукції супероксидного аніон-радикала, стану пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту, активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Розділ 4 присвячений вивченню ролі ізоформ NO-синтази у патогенезі порушень окиснювальних процесів та функції слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому. Для пригнічення NO-синтази використовували селективні інгібітори нейрональної (7-нітроіндазол) та індукцибельної (аміногуанідин) ізоформ ферменту.

У розділі 5 наведено результати дослідження впливу субстрату NO-синтаз на окиснювальні процеси та функції слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Розділ 6 присвячений з'ясуванню ролі пероксинітриту у патогенезі порушень окиснювальних процесів та функції слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому. З цієї метою досліджено вплив скевенджера пероксинітриту L-селенометіоніну на

показники активності NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну, продукції супероксидного аніон-радикала, стану пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту, активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Розділ 7 присвячений вивченню ролі NF- κ B у механізмах порушень окиснювальних процесів та функції слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому. Як інгібітори активації NF- κ B використовували JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) та відомий протидіабетичний препарат – метформіну гідрохлорид.

У розділі “*Аналіз та узагальнення результатів*” подано професійний аналіз та синтез даних, представлених в попередніх розділах роботи. Обговорення результатів дозволило автору підсумувати, що проведені дослідження вирішили основні завдання дисертації.

4. Новизна дослідження та одержаних результатів

Вперше виявлено, що відтворення метаболічного синдрому призводить у тканинах слинних залоз до реципрокних змін окисного (NO-синтазного) й неокисного (аргіназного) шляхів метаболізму L-аргініну та посилення загального фону продукції супероксидного аніон-радикала та його генерації мітохондріальним і НАДФН-залежними (мікросомальним і NOS) електронно-транспортними ланцюгами з подальшою активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів і зниженням антиоксидантного потенціалу. Пригнічення iNOS супроводжується у піднижньощелепних слинних залоз активацією конкуруючого аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, що виявляється у збільшенні активності орнітиндекарбоксилази.

Вперше виявлено, що функціональна активність pNOS за умов експериментального метаболічного синдрому зменшує у тканинах піднижньощелепних слинних залоз продукцію супероксидного аніон-радикала НАДФН- і НАДН-залежними електронно-транспортними ланцюгами, обмежує активацію пероксидного окиснення ліпідів, але знижує

активність каталази та істотно не позначається на стані антиоксидантного потенціалу. Функціонування nNOS за умов відтворення метаболічного синдрому сприяє збільшенню активності α -амілази у тканинах піднижньощелепних слинних залоз.

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

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

5. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження

Результати дисертаційної роботи розширюють наукові уявлення про роль компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриту) та транскрипційного ядерного фактора κ B у

патогенезі функціонально-метаболических порушень піднижньощелепних слинних залоз щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції дисфункції слинних залоз за умов МС засобами, що впливають на активність ізоформ NOS і NF-κB-сигналізацію. Одержані результати можуть використовуватися як експериментальне обґрунтування призначення L-селенометіоніну та інгібіторів активації NF-κB як перспективних засобів корекції функціонально-метаболического стану слинних залоз за умов метаболічного синдрому. Розроблений спосіб експериментального моделювання метаболічного синдрому (патент України на корисну модель № 93517).

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патофізіології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», Державного вищого навчального закладу України «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського», Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Харківського національного медичного університету, науково-дослідницьку роботу Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія».

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

Дисертаційна робота Єлінської Аліни Миколаївни виконана з використанням сучасних методів досліджень (експериментальних, біохімічних, математико-статистичних) на 85 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г. У дисертаційній роботі використані сучасні методи дослідження та статистичної обробки інформації. Обсяг наукового матеріалу

достатній для обґрунтування положень та висновків, винесених на захист.

Основні положення та висновки дисертації підтверджуються статистично достовірними результатами досліджень. Висновки роботи обґрунтовані і логічно витікають з результатів досліджень. Достовірність основних положень і висновків, викладених у дисертації, підтверджується наявністю первинної документації.

Застосовані методики дослідження та експериментальні моделі можуть бути відтвореними та повністю відповідають меті та завданням дослідження.

Дисертант продемонстрував здатність до логічного аналізу і узагальнення отриманих результатів. Достовірність отриманих результатів підтверджена коректною статистичною обробкою.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

За темою дисертації опубліковано 14 наукових праць, з них 5 статей у фахових виданнях України, що входять до переліку МОН України, 1 стаття у фаховому журналі за кордоном (Республіка Білорусь), 7 робіт опубліковано у матеріалах конгресів і конференцій, одержано 1 патент України на корисну модель. У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи. Матеріали дисертації апробовано на конгресах і конференціях різних рівнів. Автореферат дисертації за змістом та формою відповідає вимогам МОН України і містить усі основні положення дисертації.

8. Недоліки дисертації щодо змісту та оформлення

Суттєвих недоліків у дисертаційній роботі та авторефераті не виявлено. Вони написані логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення, хоч і не позбавлена деяких недоліків не принципового характеру.

1. Дисертація містить 5 розділів, що містять результати власних досліджень. Розділ 4 “Роль ізоформ NO-синтаз у патогенезі порушень окиснювальних процесів та функції слинних залоз за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому” та розділ 5 “Вплив субстрату NOS на окиснювальні процеси та функції слинних залоз за умов відтворення

експериментального метаболічного синдрому” раціонально було б об’єднати в один.

2. У списку використаних джерел близько 30% складають застарілі джерела (більше 10 років)

3. У висновках — велика кількість скорочень, які не є загальноприйнятими.

Зустрічаються поодинокі орфографічні та стилістичні помилки.

Але відзначені недоліки не мають принципового значення і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертації.

В процесі рецензування виникло декілька запитань дискусійного плану, які можливо обговорити під час офіційного захисту:

1. В роботі була використана модель метаболічного синдрому, яку Ви у співавторстві розробили та одержали патент України на корисну модель. Чим була обумовлена необхідність її розроблення та які переваги вона має перед іншими експериментальними моделями метаболічного синдрому?

2. За рахунок яких механізмів за умов метаболічного синдрому зростає продукція супероксидного аніон-радикала у слинних залозах?

3. Яким чином нейрональна NO-синтаза сприяє збільшенню активності α -амілази в слинних залозах за умов МС?

4. Чому інгібітори активації транскрипційного ядерного фактора κ B не впливали на активність антиоксидантних ферментів слинних залоз за умов метаболічного синдрому?

Зауваження не змінюють загальної позитивної характеристики роботи. Основні наукові положення та висновки автора не підлягають сумніву.

9. Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Єлінської Аліни Миколаївни на тему: «NO- та NF- κ B-залежні механізми ураження слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому» виконана за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки) згідно з паспортом спеціальності, затвердженим постановою президії ВАК України від 11.09.2002 р. № 14-09/8

за п. 2.4 напрямків досліджень: моделювання патологічних станів, процесів і хвороб з метою вивчення загальних і спеціальних закономірностей порушень і відновлення діяльності органів і функціональних систем організму, а також експериментальної терапії цих порушень.

Дисертаційна робота Єлінської Аліни Миколаївни «NO- та NF-κB- залежні механізми ураження слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому» є завершеною кваліфікаційною науково-дослідною працею, яка містить наукові положення та науково обґрунтовані результати проведених автором досліджень у медичній галузі науки, зокрема, в патофізіології, що розв'язують важливе наукове завдання, а саме з'ясовують роль компонентів системи оксиду азоту (різних ізоформ NO-синтази, її субстрату, пероксинітриду) та транскрипційного ядерного фактора κB у патогенезі дисфункції піднижньощелепних слинних залоз щурів за умов відтворення експериментального метаболічного синдрому.

Таким чином, за актуальністю, об'ємом, використанням методів досліджень, новизною отриманих даних подана дисертація відповідає пункту 11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р., та вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю - 14.03.04 – патологічна фізіологія, а дисертант заслуговує присвоєння вченого ступеня кандидата медичних наук.

Офіційний опонент,
доктор медичних наук, професор,
професор кафедри патологічної фізіології
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України

Підпис Тюпки Т.І. ЗАСВІДЧУЮ
Заступник ректора з кадрових питань



Т.І. Тюпка

Подстрелова З.Ф.