

## **ВІДГУК**

на дисертаційну роботу Козаєвої Рити Сулікоївни «Механізми алкоголь-індукованого ураження слинних залоз, модельованого на тлі системної запальної відповіді, та їхня корекція поліфенолами», представлену до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина»

**Актуальність теми.** Дисертаційна робота Козаєвої Рити Сулікоївни присвячена дослідженню закономірностей розвитку алкогольного ураження слинних залоз (СЗ) за умов ліпополісахарид (LPS)-індукованої системної запальної відповіді (SIR) та експериментальному обґрунтуванню застосування поліфенолів як засобів патогенетичної терапії.

Алкоголь згубно впливає на органи порожнини рота, змінюючи транспорт різних сполук через слизові оболонки, що призводить до розвитку патологій ротової порожнини, таких як карієс зубів, пародонтит та ураження слизової оболонки. Патогенний вплив алкоголю на слинні залози проявляється у зміні їхніх морфометричних показників та викликає функціонально-метаболичні порушення даних органів, що супроводжується розвитком запально-дистрофічних процесів.

Роль поліфенолів як ефективних засобів патогенетичної корекції системної відповіді при хронічному запаленні активно вивчається сучасними дослідниками, і як результат, встановлена їх здатність модулювати активність редоксчутливих транскрипційних чинників з подальшим пригніченням пакетної експресії генів, що кодують прозапальні цитокіни, гострофазові білки, ефектори оксидативно-нітрозативного стресу (ОНС), матриксні металопротеїнази тощо.

Актуальність дисертаційної роботи не викликає сумнівів, оскільки молекулярно-біологічні механізми розвитку запально-дистрофічних захворювань слинних залоз при надмірному споживанні алкоголю на тлі системної запальної відповіді та роль поліфенолів як засобів патогенетичної терапії алкогольного ураження слинних залоз залишаються нез'ясованими.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Чорноморського національного університету імені Петра Могили та є фрагментом науково-дослідницької теми «Клітинні та гуморальні механізми патологічних процесів і хвороб та розробка принципів і методів їхньої корекції», № державної реєстрації 0120U104996. Автор є співвиконавцем даної теми.

**Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Наукові положення та висновки, наведені у роботі, підтверджені достатнім обсягом досліджень, адекватними, різноманітними методами дослідження й статистичного аналізу та відповідають об'єкту і предмету дослідження. Дослідження включає результати, отримані в експериментах, виконаних на 56 щурах лінії *Wistar* масою 205-220 г. Особливо слід відзначити діапазон методів, використаних для досягнення мети та завдань дослідження. Це комплекс експериментальних методів, що включали моделювання алкогольного ураження слинних залоз, LPS-індукованої SIR, терапевтичний вплив поліфенолів, імуноферментних – визначення вмісту в сироватці крові прозапальних і протизапального цитокінів, гострофазового С-реактивного протеїну, концентрації аквапорину (AQP) 5 в гомогенаті досліджуваних органів та біохімічних, таких як визначення швидкості утворення супероксидного аніон-радикала, активності NO-синтази та її ізоформ, концентрації пероксинітритів і S-нітрозотіолів, вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, активності супероксиддисмутази (SOD), каталази (CAT) та  $\alpha$ -амілази (AA) в гомогенаті слинних залоз. Тож, широкий спектр показників, що досліджувались, свідчить про повноту отриманих експериментальних результатів, що були опрацьовані статистично з використанням пакету програм Microsoft Office Excel з розширенням Real Statistics: перевірка розподілу на нормальність шляхом розрахунку критерію Шапіро-Уїлка, у разі нормального розподілу параметричний метод з визначенням критерію Стюдента, а у разі відхилення від нормального розподілу – тест Мана-Уїтні. Це є свідченням професійного підходу до виконання дисертаційної роботи, а також системного підходу до вибору теми, формулювання мети, завдань і висновків за результатами, отриманими в науковій роботі.

Усе вищезазначене дозволяє вважати основні наукові положення повністю обґрунтованими.

**Наукова новизна та практична цінність отриманих результатів.** Вперше було показано, що застосування алкоголю на тлі LPS-індукованої SIR викликає зміни показників цитокінового спектру та гострофазових білків у крові щурів (зростання вмісту фактора некроза пухлин- $\alpha$  та інтерлейкіну-6 та С-реактивного протеїну), супроводжується більш значним розвитком оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах піднижньощелепних СЗ порівняно з групами з окремим введенням LPS та 40 %-го етанолу, що підтверджувалося збільшенням продукції супероксидного аніон-радикала, активності індукбельної ізоформи NO-синтази, вмісту активних метаболітів

азоту, концентрації вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів та зменшенням активності SOD.

Наукову цінність дисертаційного дослідження становить той факт, що застосування куркуміну, епігалокатехіну-3-галату, кверцетину та ресвератролу за умов поєднаного введення 40 %-го етанолу та LPS чинять корегуючий ефект на розвиток системної запальної відповіді в тканинах піднижньощелепних слинних залоз (ПСЗ), знижуючи рівень прозапальних цитокінів і С-реактивного протеїну та збільшуючи концентрацію інтерлейкіну-10. Також встановлено, що за цих же умов куркумін та біофлавоноїди істотно обмежують розвиток оксидативно-нітрозативного стресу (зменшення продукції супероксидного аніон-радикала, активності індукбельної ізоформи NO-синтази, концентрації активних метаболітів азоту й утворення вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів та зростання активності антиоксидантних ферментів – SOD та каталази) та покращують функціональний стан СЗ, збільшуючи активність АА та концентрацію аквапорину (AQP)5. Вперше продемонстровано, що як антиоксидант ресвератрол ефективно обмежує розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в ПСЗ за умов поєднаного введення 40 %-го етанолу та LPS, а також збільшує активність АА та кількість AQP5, що в цілому сприяє покращенню функціонального стану СЗ.

Отже, розширення та доповнення уявлень про окремі механізми розвитку алкогольного ураження слинних залоз за умов LPS-індукованої системної запальної відповіді можуть слугувати мішенями для можливого терапевтичного впливу.

Практичне значення роботи зумовлено тим, що встановлені автором дослідження корегуючих ефектів куркуміноїдів, флавоноїдів та стильбеноїдів на показники цитокінового спектру й гострофазових білків у крові щурів та показники ОНС в тканинах ПСЗ щурів при окремому та поєднаному введенні алкоголю та LPS обґрунтовують можливості патогенетичної терапії патології СЗ при їх алкогольному ураженні за умов SIR. Результати дослідження впроваджені у науково-педагогічний процес на кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету; кафедрі патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

**Повнота викладення основних результатів дисертаційних досліджень.** Зміст роботи та опубліковані наукові праці дають підстави вважати, що мета та завдання дослідження вирішені у повному обсязі та відповідають висновкам дисертації.

Дисертаційна робота має основні структурні елементи згідно з вимогами до оформлення дисертації. Основна частина містить вступ, шість розділів, висновки, список використаних джерел та додатки. Основний текст роботи має достатній обсяг, ілюстрований 53 рисунками та 3 таблицями. Список використаних джерел містить 323 публікації, 244 з яких – латиницею.

У вступі висвітлено актуальність теми дисертації шляхом аналізу сутності наукової проблеми, сформульовані мета та завдання відповідно до предмету та об'єкту дослідження, вказано зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, особистий внесок здобувача, апробація матеріалів дисертації та наведена структура й обсяг дисертації.

У розділі 1 «Механізми впливу алкоголю та хронічного дифузного запалення на метаболізм і функцію слинних залоз людини та тварин» (3 підрозділи) проведено аналіз сучасних публікацій за даною науковою проблематикою з висвітленням аспектів, що на даному етапі залишаються до кінця нез'ясованими. У цілому огляд є змістовним та інформативним. Привертає увагу значний обсяг опрацьованих сучасних літературних джерел за проблематикою дослідження.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» містить опис дизайну експериментів, що включає розподіл тварин за групами, опис методик експериментальних моделей (алкогольне ураження СЗ, системна запальна відповідь), способу застосування поліфенолів та дози. У цьому розділі перераховуються методи (експериментальні, імуноферментні та біохімічні), застосовані для визначення досліджуваних показників, також вказано, що саме досліджувалось кожним методом. Слід відзначити коректне обрання методики для відтворення системної запальної відповіді, розвиток якої достовірно підтверджується результатами дослідження, представленими у розділі 3. Також у розділі наведені методи статистичної обробки результатів дослідження та докази дотримання етичних норм при проведенні експериментів. Матеріали і методи, обрані для дослідження, є методологічно коректними.

Результати власних досліджень представлені у трьох розділах, кожен з яких включає по три підрозділи. У розділі 3 розглянуто роль окисно-нітрозативного стресу в механізмах функціонально-метаболічних розладів слинних залоз щурів при їх алкогольному ураженні та системній запальній

відповіді. Цінність даного розділу полягає в тому, що результати, представлені у ньому, вірогідно підтверджують адекватність обраних методик для відтворення експериментальних моделей дисертаційного дослідження. Розділи 4 і 5 присвячені дослідженню впливу куркуміну, біофлавоноїдів та ресвератролу на метаболічні та функціональні розлади слинних залоз щурів при їх алкогольному ураженні та системній запальній відповіді. Дослідження показників нітрузо-оксидативного стресу включають як дослідження прооксидантної ланки, так і антиоксидантної, що представляється цілком достатнім для оцінки розвитку ОНС та ефективності застосування поліфенолів в умовах експерименту. А отримані таким чином результати дозволяють сформулювати обґрунтовані висновки.

Привертає увагу логічність у презентації результатів власних досліджень у кожному підрозділі, що спрощує сприйняття та сприяє формуванню цілісності дисертаційного дослідження.

Даючи характеристику в цілому розділів, що містять результати власних досліджень, слід зазначити, що дисертантка провела багатогранні та об'ємні дослідження, які мають вагоме наукове та практичне значення.

Кожен розділ завершується висновками, сформульованими на основі отриманих наукових результатів дисертації, та переліком публікацій автора, де ці результати відображені.

Дисертація завершується аналізом з узагальненням результатів та висновками, які є аргументованими та відповідають поставленим меті і завданням. Крім текстового, автор наводить схематичні узагальнення власних результатів, що відповідають сучасним гіпотезам.

Зміст дисертаційної роботи за всіма розділами відповідає напрямку спеціальності, за яким дисертантка здобуває науковий ступінь. Рукопис за структурою і змістом розділів є впорядкованим згідно з офіційними вимогами. Матеріал дисертації викладений чітко і послідовно, презентований матеріал логічно пов'язаний між собою.

**Особистий внесок здобувача для отримання наукових результатів.** Здобувачкою особисто проаналізовано наукову літературу з питань, що досліджувалися, сформульовано мету та завдання дисертаційної роботи. Спільно з науковим керівником розроблено програму досліджень. Разом зі співавторами, які вивчали інші органи та процеси, проведено експериментальні дослідження на тваринах. Самостійно виконано аналіз отриманих результатів, статистичну обробку матеріалу, інтерпретацію одержаних результатів, формулювання висновків та написання наукових статей.

**Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.**

За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 11 робіт, з яких 4 статті у фахових періодичних виданнях (з них 2 – у журналах, що реферуються міжнародною наукометричною базою “Scopus”) і 7 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій. Публікації висвітлюють основні положення дисертації, що становлять наукову новизну і винесені на захист.

Обґрунтованість наукових положень, висновків, сформульованих у роботі, також підтверджується їхньою апробацією на Всеукраїнських науково-практичних конференціях та конференціях з міжнародною участю. Якість, обсяг і кількість публікацій здобувачки відповідає вимогам, встановленим для здобуття наукового ступеня доктора філософії.

**Зауваження та запитання щодо змісту й оформлення дисертації.**  
Загальна оцінка роботи є позитивною. Дисертаційна робота оформлена згідно з Вимогами до оформлення дисертації. Зауваження до методології, обробки отриманих результатів та їх інтерпретації відсутні. Проте, на мою думку, у розділах 4 і 5 доцільно було б, для кращого розуміння, деякі абсолютні дані, які подані у вигляді графіків, подати окремою таблицею. Однак, даний коментар не зменшує актуальності, наукової новизни, теоретичної і практичної цінності роботи, і не є принциповим.

У плані наукової дискусії потребують обговорення наступні питання:

1. Чим керувалися при обранні патогенезу алкоголь-індукованого ураження слинних залоз як об'єкта дослідження?

2. Чому в експериментах вводили алкоголь саме у дозі 24 мг/кг впродовж 14 діб?

3. Чим обумовлений вибір саме таких поліфенолів як куркумін, епігалокатехін-3-галат, кверцетин та ресвератрол для корекції алкогольного ураження слинних залоз на тлі системної запальної відповіді?

4. Який із застосованих поліфенолів проявив найбільшу активність як засіб патогенетичної терапії в експерименті і як Ви можете це пояснити?

**Висновок про відповідність роботи вимогам, які пред'являються до присудження наукового ступеня доктора філософії.**

Дисертаційна робота Козаєвої Р.С. є самостійним, завершеним експериментальним дослідженням. Положення дисертації базуються на експериментально доведених даних, отриманих за допомогою різноманітних сучасних методів. За актуальністю, високим методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, їх вірогідністю, обґрунтованістю висновків представлено дисертаційне дослідження Козаєвої Рити Сулікоївни.

«Механізми алкоголь-індукованого ураження слинних залоз, модельованого на тлі системної запальної відповіді, та їхня корекція поліфенолами» відповідає спеціальності 222 «Медицина» та вимогам постанови Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. «Тимчасовий порядок присудження ступеня доктора філософії» (із змінами від 21.10.2020 р. № 979 та від 09.06.2021 р. № 608), не містить ознак порушення академічної доброчесності та оформлене згідно з вимогами, затвердженими наказом Міністерства освіти і науки «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 р. № 40, тому може бути рекомендованою до подання до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина».

Доцент кафедри медичної біології та фізики,  
мікробіології, гістології, фізіології  
та патофізіології

Чорноморського національного  
університету імені Петра Могили,  
канд. біол. наук, доцент

*Л. Чеботар*

Лариса ЧЕБОТАР

*Згідно Лариси Чеботар*  
*начальника відділу кадрів*

