

ВІДГУК

офіційного опонента, завідуючої лабораторії біохімії ДУ «Інститута очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН», доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника Михейцевої Ірини Миколаївни на дисертаційну роботу Сідлецького Олексія Сергійовича на тему «Стан кісток самок щурів при порушенні функції яєчників та його корекція», представлену до захисту у разову спеціалізовану вчену раду Одеського національного університету імені І.І. Мечникова для розгляду та проведення захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертації

Темою роботи було обрано актуальну проблему остеопатії, до якої в більшій мірі схильні жінки при згасанні функції яєчників. Таке явище як передчасна недостатність яєчників останні роки неухильно поширюється. У таких умовах стан остеопорозу та ризик переломів у жінок суттєво підвищується навіть у порівнянні з жінками після фізіологічної менопаузи.

Одним із значних чинників передчасної недостатності яєчників є дія на цю систему в організмі жінок хімічних деструкторів ендокринної регуляції, таких як пестициди. Вони здатні різнопланово впливати на стан жіночої гормональної системи через блокування роботи рецепторів, викликати пошкодження метаболізму гормонів та їх транспортування. Інсектициди є найбільш токсичні серед пестицидів. Піретроїдні інсектициди найбільш поширені в Україні. Одним з таких піретроїдів є циперметрин. Він здатен порушувати функцію яєчників, діючи шляхом посилення прооксидантних реакцій та володіючи спроможністю взаємодії з рецепторами естрогенів. Але на сей час невивчена повною мірою токсичність цього інсектициду, його вплив на кісткову систему через здатність пригнічувати активність яєчників.

Для попередження розвитку стану остеопатії в умовах зниження функції яєчників природного та токсичного генезу застосовують різні препарати, серед них статеві гормони, селективні модулятори естрогенових рецепторів, біфосфонати тощо. Але їх ефективність значною мірою нівелюється суттєвими побічними діями. Безпечною альтернативою може стати препарат на основі кверцетину. Відомо, що ця сполука здатна регулювати гормональний баланс і дефіцит естрогенів в кістковій тканині.

Вивчення особливостей змін стану кісток при зниженні функції яєчників в умовах інтоксикації інсектицидом α -циперметрином, а також спроба корекції виявлених змін природними малотоксичними засобами є актуальною науково-практичною тематикою, яка потребує глибокого дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана здобувачем в рамках наукових тем кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти ОНУ імені І. І. Мечникова «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря» (№ ДР 0119U000499), «Дослідження механізмів розвитку патологічних станів у людини та тварин під впливом ксенобіотиків» (№ ДР 0124U004566) та ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України» «Експериментальне дослідження змін тканин ротової порожнини у щурів під впливом ксенобіотиків та гіпоксії» (№ ДР 0120U105477), «Експериментальне обґрунтування розробки профілактичних засобів для запобігання метаболічних порушень, які викликані ксенобіотиками воєнного походження» (№ ДР 0123U102321). Здобувач був співвиконавцем вищезначених тем.

Оцінка наукового рівня, ступню обґрунтування дисертаційної роботи і наукових публікацій здобувача.

Усі наукові положення дисертаційної роботи, висновки, які автором зроблені в дисертації, науково обґрунтовані, достовірні, логічно витікають із результатів досліджень та відповідають меті та завданням дисертації. Дисертаційне дослідження виконано на належному науково-методичному рівні із

застосуванням сучасних лабораторних, статистичних методів та методів комп'ютерного моделювання. База даних експериментальних лабораторних, біохімічних, морфометричних спостережень є достатньою для отримання достовірних результатів. За результатами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, з них 6 статей у наукових фахових виданнях України в журналах відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії» та 9 тез у матеріалах конференцій. Всі основні положення дисертації викладено в опублікованих статтях, що свідчить про достатній рівень їх оприлюднення.

Наукова новизна одержаних результатів дослідження

Здобувачем представлені результати експериментальних досліджень, які поглиблюють знання щодо патогенезу остеодистрофії в умовах оваріоектомії у самок щурів при аліментарному дефіциті білка та кальцію. Було доведено, що остеорезорбція при оваріоектомії та дефіциті нутрієнтів супроводжується розвитком запалення, окислювального стресу, дисбіозу у травному тракті на тлі суттєвого гальмування абсорбції кальцію.

В роботі застосовано дослідження *in silico*, при якому за допомогою декількох програм докінгу вперше встановлено антагонізм піретроїдного інсектициду α -циперметрину та його метаболітів до α -рецептору естрогенів. Оцінка докінгу кверцетину встановила його виражену агоністичну дію з α -рецептором естрогенів поряд з лікоподібністю та властивостями витіснити α -циперметрин з рецепторів при конкурентному зв'язуванні.

В роботі автором поширені знання щодо гонадотоксичної властивості α -циперметрину за збільшенням тривалості естрального циклу, збільшення рівня естрадіолу в крові, зменшення органного індексу яєчників у щурів.

Вперше виявлено посилення резорбції кісткової тканини стегна, хребців та альвеолярної частини нижньої щелепи у самок щурів за умови тривалого

впливу α -циперметрину, що здобувач пов'язує з його гонадотоксичними ефектами.

При інтоксикації α -циперметрином було виявлено компенсаторну активацію остеогенезу та антиоксидантного захисту кісткової тканини альвеолярної частини нижньої щелепи самок щурів. Показано, що оваріоектомія у супроводі з дефіцитом білка та кальцію в їжі викликає у щурів більш інтенсивні патологічні процеси у кістковій тканині ніж інтоксикація α -циперметрином.

В роботі встановлено за допомогою досліджень *in silico*, що кверцетин має агоністичний ефект до α -рецептору естрогенів поряд з лікоподібністю та здатен витіснити α -циперметрин з рецепторів, а також зменшувати деструктивні явища у кістках і травному тракті оваріоектоміованих щурів та після інтоксикації α -циперметрином. Ці дані дозволили обґрунтувати доцільність застосування профілактичного комплексу з кверцетином для попередження порушень статеві, кісткової, травної систем при патології яєчників різної етіології.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі вивчення механізму впливу викликаного α -циперметрином дефіциту естрогенів автором розроблено рекомендації щодо використання комплексу кверцетину, вітамінів С та D, мікро- та мікроелементів для профілактики інтоксикації з антиоксидантною, протизапальною та остеопротекторною дією. Саме використання цього профілактичного комплексу попередило у експериментальних тварин остеорезорбцію з нормалізацією щільності кісткової тканини при дефіциті естрогенів. Індукований у травному тракті α -циперметрином оксидативний стрес та запалення були зупинені пропонованим комплексом на основі кверцетину.

Отримані в експерименті дані дозволяють рекомендувати вивчений кверцетин-вітамінний комплекс у клініці для профілактики остеодистрофій при природньому або токсичному порушенні функції яєчників.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому, зауваження щодо оформлення

Рукопис дисертації відповідає встановленим вимогам щодо об'єму та змісту. Вона викладена на 199 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів результатів власних досліджень, розділу аналізу та обговорення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація ілюстрована 15 рисунками і 26 таблицями.

В **анотації**, яка наведена українською та англійською мовами, стисло викладені основні положення дисертаційної роботи.

У **вступі** дисертантом детально обґрунтована тема та актуальність дослідження, мета і завдання дослідження, методи його виконання. Наукова новизна і практична значимість дослідження сформульовані лаконічно із зазначенням нових отриманих результатів. Також представлені публікації автора та матеріали апробацій.

У **першому розділі** дисертації «Функціонування кісткової тканини в нормі та при патології (огляд літератури)» наведено аналіз сучасної літератури з проблеми, яка вивчається. Так розглянуті питання фізіології та патології кісткової тканини, особливостей її ремодулювання в умовах недостатності естрогенів. Автор висвітлює дані літератури щодо ролі піретроїдних інсектицидів як факторів порушень структури і функції кісток. Окремо аналізується питання можливостей медикаментозного лікування остеодистрофії. Аналіз наукових робіт, який включає літературні джерела за останні роки, показав невирішеність і актуальність даної проблеми. Розділ викладено на 19 сторінках. Матеріал викладено логічно, грамотно. Зауважень до розділу немає.

У **другому розділі** представлено матеріал і методи дослідження. Розділ викладено на 15 сторінках. Опис методу проведення експерименту, морфометричних, біохімічних досліджень виконано в повному обсязі. Окремо

в розділі надано опис методів комп'ютерного моделювання. Також представлені методи статистичної обробки даних, показана ґрунтовність їх використання. Всі методи статистичної обробки відповідають стандартам сучасних біологічних досліджень. Зауважень до розділу немає.

Третій розділ присвячений результатам власних досліджень по вивченню впливу комплексу кверцетину, вітамінів та мінералів на стан кісток у оваріоектомованих самок щурів. Автором наведено дані по морфометрії кісток різних частин тіла самок щурів, які зазнали двосторонньої оваріоектомії, а саме стегнових кісток, хребців та альвеолів щелепи. Вивчено біохімічні показники альвеолярній частини нижньої щелепи, такі як активність ферментів лужна та кисла фосфатаза, еластаза, каталаза. Було встановлено, що оваріоектомія та дефіцит білка і кальцію негативно впливають на мінеральну складову кісткової тканини, активність ферментів, які вивчали, збільшувалась.

Оваріоектомія та дефіцит білка і кальцію призвели до зменшення щільності та вмісту мінерального компоненту у кістках стегна та хребців самок щурів. В альвеолярній частини нижньої щелепи тварин спостерігали двократне збільшення активності кислої та лужної фосфатаз, зростання активності еластази та каталази. Патологія викликала зниження загальної абсорбції кальцію та запальний процес слизових оболонок травного тракту.

Профілактичний комплекс позитивно впливав на стан кісток, у альвеолярній частини нижньої щелепи щурів зменшилась активності ферментів КФ, ЛФ, еластази та не вплинуло на антиоксидантний стан. Розділ містить 16 сторінок, дані проілюстровані 1 рисунком та 9 таблицями. Зауважень до розділу немає.

В четвертому розділі наведені дані комп'ютерного моделювання, проведеного на декількох платформах. Застосування AutoDockVina показало близьку афінність α -циперметрину з 3ERT. Докінг аналіз за прогнозуванням Schrödinger Maestro Glide показав, що кверцетин зв'язується з ER α , навіть сильніше за α -циперметрин.

В цьому розділі дослідження *in silico* дозволили з'ясувати особливості патогенезу остеодистрофії, індукованої піретроїдним пестицидом α -циперметрином. Завдяки застосованому в цьому розділі методу докінг аналізу вдалось встановити, що при патології тканини кісток пестицид зв'язується з рецепторами естрогенів, циперметрин запобігав таким чином нормалізації рівня естрадіолу. За допомогою комп'ютерного моделювання автор довів високу афінність циперметрину та його метаболітів до ER α , що пояснює спроможність пестициду блокувати рецептори. Розділ містить 16 сторінок. Дані в розділі проілюстровані 7 таблицями. Зауважень до розділу немає.

В п'ятому розділі представлені дані вивчення функції яєчників, кісткової тканини, травного тракту у самок щурів, яким вводили α -циперметрин. Крім того було досліджено профілактична ефективність кверцетинового комплексу при інтоксикації піретроїдом. Встановлено, що в умовах інтоксикації α -циперметрином запропонований комплекс кверцетину, вітамінів та мінералів ефективно протидіє деструктивним ефектам піретроїду на статеву, кісткову та травну систему. Розділ містить 14 сторінок. Дані в розділі проілюстровані 4 рисунками, 6 таблицями. Принципових зауважень до розділу немає.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автором проведено ретельний аналіз результатів власної роботи. Також в цьому розділі порівняно результати власних досліджень з даними опублікованих робіт інших авторів сучасної світової літератури. Цей розділ дає вичерпне уявлення про методологічні підходи, характер і результати проведених дисертантом досліджень. Зауважень по даному розділу немає.

Висновки повністю відповідають завданням дослідження та відображають результати проведеної роботи.

Список використаної літератури включає 262 джерела (49 кирилицею і 213 латиницею). На усі джерела містяться посилання в дисертації. Список оформлено відповідно ДСТУ2015.

Додаток до дисертації містить додаткові таблиці і рисунки, які відображають результати власних досліджень.

Наявність ознак академічного плагіату та порушень академічної доброчесності

При вивченні дисертації не було встановлено порушень принципів академічної доброчесності. При детальному вивченні дисертації ознак академічного плагіату не виявлено. В дисертаційній роботі не використовувались ідеї, розробки, текстові запозичення, наукові результати та матеріали інших авторів без посилання на джерело.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях .

Основні результати дисертації опубліковані в 15 наукових працях, які відповідають вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженому Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. (зі змінами), зокрема 6 статей в журналах з «Переліку наукових фахових видань України, дозволених для публікації результатів дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», з них 1 видання, яке входить до наукометричної бази SCOPUS, 9 робіт – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації. Зауважень до кількості і якості публікацій наукових праць за темою дисертації немає.

Питання та недоліки дисертації щодо її змісту і оформлення.

Питання:

1. Чому ступінь атрофії кісткових тканин з використанням біохімічних показників вивчали саме в щелепі?
2. Яким чином було встановлено дисбіоз в травневому тракті у щурів при оваріоектомії та дефіциті нутрієнтів, якими маркерами це доведено і чому саме ними?

3. За даними літератури циперметрин зменшує масу яєчників та збільшує масу матки у тварин. Як ви поясните той факт, що у вашому дослідженні органний індекс матки не змінювався?
4. Яким чином готували суспензію лікувального комплексу, як часто його вводили, на якій підставі розроблена доза 500 мг/кг?

Зауваження:

1. Присутні неточності та помилки в оформленні дисертації. Так, в додатках відсутній список публікацій здобувача та відомості про апробацію результатів.
2. Невдало сформульована подача цифрових даних у другому висновку.
3. В тексті зустрічаються скорочення, які не розшифровані в переліку умовних позначень.

Зазначенні запитання та зауваження не є принциповими і не знижують наукової цінності дисертації.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Сідлецького Олексія Сергійовича «Стан кісток самок щурів при порушенні функції яєчників та його корекція» є завершеною науковою працею, що містить аргументовані та доведені наукові положення і яка присвячена дослідженню стану кісткової тканини та травного тракту у самок лабораторних щурів при оваріоектомії та інтоксикації інсектицидом α -циперметрином, а також профілактики порушень у кістковій тканині, які викликані дисфункцією яєчників.

Представлена дисертаційна робота сучасна, актуальна, вносить вклад в теоретичну та практичну біологію та повністю відповідає вимогам Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (зі змінами), вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженому Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022

р. (зі змінами), а дисертант Сідлецький Олексій Сергійович заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

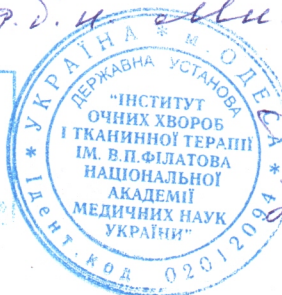
Офіційний опонент:


Завідуюча лабораторією біохімії
ДУ «Інститута очних хвороб і тканинної
терапії ім. В.П. Філатова НАМН»,
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

 Ірина МИХЕЙЦЕВА

*справовність підпису д.б.н. Михейцевої І.
засвідчую*

НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ
ДЕРЖАВНОЇ УСТАНОВИ
«ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І
ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ
ІМ. В.П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»




І. В. Віктор