

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувачки кафедри біомедицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, доктора біологічних наук, професора Фалалєєвої Тетяни Михайлівни 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.

Метаболічні порушення, що впливають на кісткову тканину та характеризуються дисбалансом, при якому резорбція кісток перевищує мінералізацію, значною мірою сприяють розвитку остеопатичних станів, таких як остеопенія, остеодистрофія та остеопороз. Ці розлади становлять глобальну проблему охорони здоров'я, підвищуючи ризик переломів, знижуючи якість життя та спричиняючи значні витрати на лікування. Понад 200 мільйонів людей у світі страждають від цих патологій, і очікується, що ця цифра зростатиме через старіння та зміни способу життя.

В Україні скринінг показує, що 47,43% жінок віком від 20 до 87 років у міських районах з населенням понад один мільйон мають остеопенію, тоді як у 7,03% діагностовано остеопороз. У країні 30,7% жінок та 21,6% чоловіків старше 55 років страждають від остеопорозу. Вища поширеність у жінок пояснюється гормональними змінами, такими як зміни, пов'язані з менопаузою, які можуть призвести до посилення остеопатії та пов'язаних з нею проблем зі здоров'ям.

Передчасна оваріальна недостатність у жінок пов'язана з ендокринними руйнівниками, включаючи інсектициди, такі як піретроїди, які широко використовуються в сільському господарстві, медичних засобах проти педикульозу та репелентах, через їх відносну безпечність для людини та тварин порівняно з інсектицидами інших класів. Незважаючи на їхню передбачувану

безпеку, ці хімічні речовини можуть негативно впливати на репродуктивне здоров'я. Значна залежність від піретроїдів, що становлять близько 19% світового використання пестицидів, викликає занепокоєння щодо їхньої довгострокової безпеки та впливу на здоров'я людини. Дослідження їх гонадотоксичності та впливу на здоров'я кісток є важливим, поряд з вивченням стратегій зниження ризиків захворювань кісток, пов'язаних з ендокринною дисфункцією, особливо у жінок. Для корекції автор обрав добре відомий флавоноїд рослинного походження та антиоксидант кверцетин. На сьогодні доведено, що кверцетин може модулювати гормональний баланс і компенсувати наслідки дефіциту естрогенів, зокрема в кістковій тканині. Цей комплексний підхід є важливим для збереження здоров'я людей з груп ризику.

Вище викладене обґрунтовує актуальність обраного напрямку досліджень і необхідність вивчення стану кісток самок щурів при порушенні функції яєчників та пошуку засобу корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження виконане в рамках наукових тем кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету 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 фрагментів тем.

Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Автор методологічно правильно сформулював мету та задачі відповідно до сформульованої теми дослідження. Для вирішення задач та досягнення мети використані сучасні методи досліджень, такі як: патофізіологічні (моделювання оваріоектомії з дефіцитом білка та кальцію, інтоксикація α -циперметрином); біохімічні (за маркерами запалення, ремоделювання кісткової тканини,

окислювального стресу, рівня естрадіолу); фізіологічні (за ступенем абсорбції кальцію, тривалістю естрального циклу); морфологічні (за щільністю, вмістом мінерально-органічного компоненту кісток, атрофією альвеолярної частини нижньої щелепи, органного індексу матки та яєчників); докінг-аналіз (взаємодія α -циперметрину, його метаболітів, кверцетину з α -рецептором естрогенів, параметри лікоподібності та токсичності кверцетину та α -циперметрину); статистичний аналіз результатів.

Комплексне застосування цих методів дозволило вирішити поставлені задачі та отримати достовірні результати. Висновки повною мірою відповідають отриманим результатам, є обґрунтованими та володіють всіма ознаками наукової новизни.

Положення дисертаційної роботи висвітлені в 6 статтях у наукових фахових виданнях України, одна з яких входить до наукометричної бази Web of Science. Результати дисертаційної роботи також були представлені і обговорені на дев'яти міжнародних і українських конференціях.

Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

Усі отримані результати дослідження висвітлені в опублікованих наукових працях. В умовах *in silico*, з використанням декількох програм для докінг-аналізу, виявлено антагонізм α -циперметрину та його метаболітів до α -рецептору естрогенів, що допускає їх деструктивний вплив на ендокринну систему. 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 умовах хронічного експерименту на щурах автором встановлено гонадотоксичні властивості α -циперметрину за збільшенням тривалості естрального циклу за рахунок стадії дієструсу, збільшення рівня естрадіолу в крові, зменшення органного індексу яєчників у шурів. Це підтверджує антиестрогенний характер інсектициду через глибокі порушення вісі гіпоталамус-гіпофіз-гонади та механізмів негативного зворотнього зв'язку. Вперше виявлено посилення резорбції кісткової тканини стегна, хребців та альвеолярної частини нижньої щелепи у самок шурів за умови тривалого впливу α -циперметрину.

Зроблено припущення щодо зв'язку остеодистрофічних змін з гонадотоксичними ефектами α -циперметрину. Автором визначено компенсаторну активацію остеогенезу та антиоксидантного захисту кісткової тканини альвеолярної частини нижньої щелепи самок щурів при інтоксикації α -циперметрином, що вказує на схожість розвитку остеодистрофії після оваріоектомії та головну ланку патогенезу – дефіцит естрогенів.

Показано, що оваріоектомія разом з дефіцитом білка та кальцію в їжі викликає у щурів більш інтенсивні патологічні процеси у кістковій тканині ніж інтоксикація α -циперметрином.

Встановлена *in silico* агоністична дія кверцетину до α -рецептору естрогенів поряд з лікоподібністю та властивостями витіснити α -циперметрин з рецепторів, а також деструктивні явища у кістках і травному тракті оваріоектомованих щурів та після інтоксикації α -циперметрином, дозволили обґрунтувати використання профілактичного комплексу для попередження порушень у статевій, кістковій, травній системах в умовах патології яєчників різної етіології.

Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертаційна робота побудована за стандартною схемою та викладена на 199 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, з розділів результатів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатку. Дисертація ілюстрована 15 рисунками і 26 таблицями. Перелік використаних джерел містить 262 найменувань (49 кирилицею і 213 латиницею).

У вступі обґрунтована актуальність роботи та зазначена необхідність проведення дисертаційного дослідження, зазначені мета та задачі дослідження.

У ОГЛЯДІ ЛІТЕРАТУРИ наведена сучасна література про фізіологію кісткової тканини та зазначена роль естрогенів в ремоделюванні кісткової тканини. Розглянуті етіологічні фактори порушення процесів ремоделювання кісткової тканини і сучасні засоби корекції остеодистрофії.

У РОЗДІЛІ 2 «МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ» описано дизайн дослідження, використані методи, а саме патофізіологічні (моделювання оваріоектомії з дефіцитом білка та кальцію, інтоксикація α -циперметрином);

біохімічні (за маркерами запалення, ремоделювання кісткової тканини, окислювального стресу, рівня естрадіолу); фізіологічні (за ступенем абсорбції кальцію, тривалістю естрального циклу); морфологічні (за щільністю, вмістом мінерально-органічного компоненту кісток, атрофією альвеолярної частини нижньої щелепи, органного індексу матки та яєчників); докінг-аналіз (взаємодія α -циперметрину, його метаболітів, кверцетину з α -рецептором естрогенів, параметри лікоподібності та токсичності кверцетину та α -циперметрину); статистичний аналіз результатів.

РОЗДІЛ 3 «ОСТЕОПРОТЕКТОРНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСУ КВЕРЦЕТИНУ, ВІТАМІНІВ ТА МІНЕРАЛІВ В ОВАРІОЕКТОМОВАНИХ САМОК ЩУРІВ» присвячений морфометричному та біохімічному дослідженню стегнових кісток, хребців та альвеолярної частини нижньої щелепи. Вивчено виведення та засвоєння кальцію у оваріоектомованих самок щурів при дефіциті білка і кальцію та за умови профілактики. Встановлено, що оваріоектомія в умовах дефіциту білка і кальцію призвела до зниження щільності та мінералізації кісткової тканини у самому щурі. Виявлено підвищення активності ферментів, що сприяють активації резорбційних процесів в кістках і розвитку запалення в слизових тканинах травного тракту. Застосування профілактичного комплексу з кверцетином сприяло нормалізації біохімічних показників, підвищенню щільності кісток та зменшенню проявів остеодистрофії.

У РОЗДІЛІ 4. «ДОСЛІДЖЕННЯ *IN SILICO* ОСОБЛИВОСТЕЙ ЗВ'ЯЗУВАННЯ КВЕРЦЕТИНУ, α -ЦИПЕРМЕТРИНУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ З α РЕЦЕПТОРОМ ЕСТРОГЕНУ, ЇХ ФАРМАКОКІНЕТИКИ ТА ТОКСИЧНОСТІ» за допомогою докінг-аналізу *in silico* встановлено, що α -циперметрин та його метаболіти мають афінність до α -рецепторів естрогенів, з переважно антагоністичним ефектом. Кверцетин, навпаки, продемонстрував високу спорідненість до рецепторів з агоністичною дією, подібною до естрадіолу, та здатність витіснити токсичні сполуки. Фармакокінетичні моделі підтвердили сприятливі властивості кверцетину — задовільну лікоподібність і низьку токсичність.

РОЗДІЛ 5. «СТАН КІСТОК, СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК ТРАВНОГО ТРАКТУ І ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПОКАЗНИКІВ ЯЄЧНИКІВ У САМОК ЩУРІВ ПІСЛЯ ІНТОКСИКАЦІЇ А-ЦИПЕРМЕТРИНОМ ТА ЇЇ ПРОФІЛАКТИЦІ». У цьому розділі встановлено, що тривалий вплив α -циперметрину порушує функції яєчників, знижує органний показник і змінює

гормональний фон, що супроводжує остеодистрофічні зміни в кістковій тканині. Зафіксовано зниження щільності та мінералізації кісток, посилення оксидативного стресу як у кістках, так і в слизових оболонках травного тракту. Профілактичне застосування комплексу з кверцетином дозволило зменшити негативні зміни, відновити морфометричні та біохімічні показники та підтримати гормональний баланс.

РОЗДІЛ 6 «АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ» узагальнює отримані автором результати та порівнює їх з наявною науковою літературою за темою дослідження. Важливим для сприйняття отриманих результатів є рис. 6.5 «Патогенез α -циперметрин-індукованої остеодистрофії та її корекція кверцетин-вмісним комплексом вітамінів та мінералів». На цьому рисунку схематично представлені та узагальнені отримані результати.

У роботі сформульовано сім висновків, які відповідають поставленим цілям дослідження та розкривають його наукову новину. Висновки повністю відтворюють зміст дисертаційного дослідження й наводяться на достовірному фактичному матеріалі, отриманому автором.

Робота закінчується списком використаної літератури (262 джерела) та додатком (таблиці та рисунки власних досліджень).

Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності

Автор дисертації демонструє високий рівень наукового підходу до дослідження, уміння вирішувати поставлені наукові завдання. Об'єктом дослідження були метаболічні порушення у кістковій тканині та слизових оболонках травного тракту при дисфункціях яєчників. Автор довів, що комбінація кверцетину, вітамінів та мінералів продемонструвала остеопротекторну, протизапальну та антиоксидантну дію в умовах оварієктомії або інтоксикації α -циперметрином. Це було зумовлено синергетичною дією його компонентів, що сприяло збалансуванню процесів ремоделювання кісткової тканини, про що свідчила нормалізація морфометричних та біохімічних показників.

Крім того, протизапальні та антиоксидантні властивості цього комплексу покращили засвоєння кальцію в травному тракті тварин з патологією, що ще більше посилює мінералізацію позаклітинного матриксу в кістковій тканині.

Тому вважаю, що поставлені наукові завдання автором виконані на високому методологічному рівні, а Олексій Сергійович Сідлецький є самостійним науковцем, що оволодів необхідними компетентностями рівня доктора філософії.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Встановлення впливу дефіциту естрогенів у механізмах порушення кісткової тканини, спричинених α -циперметрином, стало підґрунтям для обґрунтування доцільності застосування профілактичного комплексу на основі кверцетину, вітамінів С і D, макро- та мікроелементів. Завдяки поєднанню антиоксидантних, протизапальних та остеопротекторних властивостей цей комплекс виявляє ефективність в умовах токсичного ураження. Його використання сприяло нормалізації процесів остеогенезу, гальмуванню остеорезорбції та збереженню мінеральної щільності кісткової тканини за умов естрогенного дефіциту. Крім того, комплекс ефективно знижував прояви оксидативного стресу, викликаного α -циперметрином у травному тракті експериментальних тварин.

Слід зазначити, що це експериментальні дослідження, які потребують подальших клінічних випробувань для апробації.

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Результати проведених експериментальних досліджень свідчать про виражену остеопротекторну, протизапальну та антиоксидантну дію комплексу на основі кверцетину, вітамінів С та D, макро- та мікроелементів за умов дефіциту естрогенів та інтоксикації α -циперметрином. Ці ефекти проявляються у нормалізації процесів ремоделювання кісткової тканини, покращенні кальцієвого обміну, зниженні рівня біохімічних маркерів окислювального стресу.

На основі отриманих даних доцільним є подальше вивчення профілактичного потенціалу передбачуваного комплексу при остеодистрофіях, зумовлених гормональними порушеннями або впливом ксенобіотиків. Однак слід зазначити, що результати отримані в умовах експерименту на тваринній моделі. Для запровадження цих висновків у клінічну практику необхідно провести додаткові доклінічні дослідження та багатоцентрові клінічні випробування з метою підтвердження безпечності, ефективності та

оптимального дозування компонентів комплексу в умовах впливу естрогенового дефіциту та дії ендокринних деструкторів у людини.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.

Оцінка дисертаційної роботи Сідлецького Олексія Сергійовича на тему: «СТАН КІСТОК САМОК ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННІ ФУНКЦІЇ ЯЄЧНИКІВ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ» в цілому позитивна, але необхідно відзначити деякі зауваження і питання, які виникли в процесі рецензування такої складної та глибокої роботи, проте вони не мають принципового значення для її загальної характеристики.

1. Ви використали дозу α -циперметрину 10 мг/кг протягом 120 днів поясніть, будь ласка чим обумовлений вибір дози та тривалість досліджень.

2. Хоча автор широко висвітлює позитивний вплив комплексу з кверцетином, майже не спостерігається виявлені побічні ефекти тривалого застосування. Це створює дещо однобоку картину.

3. Яким методом визначали кількість кальцію? В роботі метод не вказаний.

4. Стор. 56 - Щурів виводили з експерименту через чотири місяці під тіопенталовим наркозом (внутрішньоочеревинно в дозі 20 мг/кг шляхом тотального кровопускання з магістральних судин. Стор. 57 - Через чотири місяці щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг), попередньо зваживши, шляхом кровопускання з серця. Виникає питання чому різні способи виведення тварин з експерименту?

5. У висновках автор наводить відсотки змін, проте не зазначає чи ці зміни статистично значимі ($p < 0,05$). Наприклад, зміна у 5,48% та 8,96 не завжди можуть бути достовірними.

6. У дисертаційній роботі зустрічаються поодинокі стилістичні та граматичні помилки. На деяких графіках та рисунках присутні підписи маленьким шрифтом, який візуально важко сприймається.

Висловлені зауваження не знижують позитивної оцінки дисертації в цілому, а також розроблених автором основних наукових положень, висновків та отриманих результатів проведених досліджень.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Сідлецького Олексія Сергійовича на тему: «СТАН КІСТОК САМОК ЩУРІВ ПРИ ПОРУШЕННІ ФУНКЦІЇ ЯЄЧНИКІВ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЯ», яка присвячена вирішенню наукового завдання, що полягає у дослідженні стану кісткової тканини та травного тракту у самок лабораторних щурів при оваріоектомії та інтоксикації піретроїдним інсектицидом α -циперметрином, а також профілактики порушень у кістковій тканині, які викликані дисфункцією яєчників, подана на здобуття ступеня доктора філософії, повністю відповідає вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022 р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023 р., а її автор заслуговує на присудження йому ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091-Біологія.

Офіційний опонент:
завідувачка кафедри біомедицини
навчально-наукового центру
«Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
доктор біологічних наук, професор

Тетяна ФАЛАЛЄЄВА

Підпис засвідчую
Вчений секретар
КАРАУЛЬНА Н.
20.05.2023

