

ВІДГУК

офіційного рецензента – доктора філософії за спеціальністю 221

«Стоматологія»,

доцента закладу вищої освіти кафедри дитячої хірургічної стоматології

Полтавського державного медичного університету МОЗ України

Попело Юлії Вікторівни

на дисертаційну роботу Тихонович Ксенії Володимирівни

«Біохімічні механізми впливу нейропатії на слинні залози тварин»,

представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду створену

згідно з наказом ректора Полтавського державного медичного університету

№351 від 10.10.2024 року на підставі рішення Вченої ради Полтавського

державного медичного університету від 09 жовтня 2024 року, протокол № 2 з

правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації

на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 - «Біологія» за

спеціальністю 091 – Біологія.

Актуальність роботи

На сьогодні нейропатія являє собою досить складну і актуальну проблему сучасної медицини, яка потребує подальшого вирішення. Зокрема, від нейропатії різного генезу потерпає до 50% всього дорослого населення. Стійке зростання поширеності цієї патології спонукає до пошуку та розробки дієвих заходів спрямованих на її попередження і лікування.

Нейропатія – це поліетіологічне прогресуюче ураження периферичної нервової системи, яке поступово погіршує якість життя людини, та нерідко призводить до інвалідизації.

За статистичними даними, на тепер, найбільш поширеними формами нейропатії є периферична діабетична та алкогольна, що обумовлено великою частотою захворювання на цукровий діабет та значною кількістю осіб, які вживають хронічно алкоголь.

Необхідно зазначити, що окрім низки біохімічних (гіперглікемія, ожиріння, дисліпідемія) факторів розвитку діабетичної нейропатії, можливим додатковим, обтяжуючим, патологічним механізмом виступає мікроциркуляторна дисфункція, яка тісно пов'язана з дисфункцією периферичних нервів.

Ініційована алкоголем, периферична нейропатія, проявляється, як прогресуюча і головним чином, залежить від тривалості вживання, становлячи 10% всіх полінейропатій. Одним із ключових моментів в ініціації даної форми нейропатії є ацетальдегід, який генерує кінцеві продукти глікації та підвищує окислювальний стрес. Крім того, дані приведені в наукових джерелах, на які посилається автор у розділі «Огляд літератури», свідчать про причетність ацетальдегіду до генезу пошкодження нейронів. Також, додатковими причинами розвитку алкогольної нейропатії є дисфункція печінки та дефіцит мікронутрієнтів, зокрема тіаміну.

Крім того, вельми актуальною проблемою залишається токсична периферична сенсорна нейропатія, ініційована хіміотерапією, яка є провідним компонентом у комплексному лікуванні онкологічних хворих. Нажаль, за даними Центру медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України, щороку поширеність онкологічних захворювань, збільшується в середньому на 5%, а отже, прогнозовано, зростає кількість пацієнтів, які потерпають від хімітоксичності, яка уражає будь-які органи і системи, в тому числі і нервову. Так, наприклад, найбільш поширеною є периферична сенсорна нейропатія, що сягає до 70% та виникає на тлі застосування хіміотерапевтичного препарату Паклітаксел при лікуванні раку молочної залози, легенів та яєчників. Паклітаксел є алкалоїдом дитерпена, який сприяє полімеризації тубуліну, порушенню конструкції мікротрубочок, зменшує периферійне надходження поживних речовин, що в свою чергу призводить до дисфункції нервів.

Багатофакторний розвиток периферичної хіміотерапевтичної нейропатії, перш за все, включає вплив на нейрональну та мітохондріальну ДНК, експресію

генів, зміну дисфункцій мітохондрій результатом чого відбувається загибель периферичних волокон, демієлінізація і дегенерація аксонів.

Звертає на себе увагу той факт, що нейропатія, будь якого генезу, не піддається лікуванню в повному обсязі, проте, є можливість полегшити її перебіг та покращити якість життя шляхом фармакологічної корекції біохімічних механізмів розвитку патологічних змін, що, в сукупності, і обґрунтовує актуальність виконаної даної дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Виконана дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи за участі кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету та кафедри біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка. (№ д/р 0120U100502, 2019-2023 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих в дисертації.

Основні положення дисертаційної роботи знайшли відображення у 21 наукових працях. Із них 4 публікації в виданнях, які входять до науково-метричних баз (Scopus, Web of Science), 4 у фахових журналах, 10 робіт у формі тез в матеріалах науково-практичних конференціях різного рівня та 3 технології.

До експерименту дисертаційного дослідження було залучено 113 білих нелінійних щурів обох статей масою тіла 180-220 г, рандомезовано розподілених на 8 груп спостереження, та проведено ряд інформативних досліджень, а саме: біохімічні методи дослідження сироватки крові щурів, біохімічні методи дослідження гомогенату слинних залоз щурів, фізіологічні, фармакологічні, біофізичні, гістологічні та методи математичної статистики. Використані методики достатньо інформативні, адекватні поставленій меті та визначеним завданням даного дисертаційного дослідження.

Робота виконана на достатньому методологічному рівні, наочно проілюстрована таблицями, та рисунками. Ступінь обґрунтованості та правомірності винесених на розгляд наукових положень, висновків, практичних рекомендацій витікають із результатів досліджень, а їх достовірність підтверджена статистичною обробкою із залученням сучасних комп'ютерних програм.

Наукова новизна одержаних результатів

Отримало подальший розвиток питання щодо біохімічних механізмів розвитку патологічних змін у великих слинних залозах на тлі хіміотоксичної, діабетичної та алкогольної нейропатії, що в свою чергу, створило передумови для можливості обґрунтування застосування комплексу вітамінів групи В та АТФ для їх корекції.

Вперше встановлено, що на тлі паклітаксел-, стрептозоцин- та етанол-індукованої нейропатії за рахунок активації оксидативного стресу фіксується зниження білоксинтетичної функції великих слинних залоз щурів.

Доповнено наукові дані щодо стану про- та антиоксидантної системи слинних залоз тварин. Так, за умов розвитку паклітаксел-індукованої нейропатії, він мав декомпенсаторний характер; за умов діабетичної - компенсаторний, тоді як на тлі алкогольної нейропатії - зафіксований дисбаланс про- та антиоксидантної системи. Крім того, виявлено, що тільки за умов алкогольної нейропатії спостерігався максимальний розвиток карбонільно-оксидативного стресу у слинних залозах щурів.

Вперше науково обґрунтована необхідність включення комплексу вітамінів: тіамінпірофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ для метаболічної корекції патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.

Вперше доведено переваги використання комплексу вітамінів групи В та АТФ протягом 9 днів на тлі моделювання діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії у щурів, а саме: відновлення активності α -амілази

великих слинних залоз щурів, пригнічення оксидативного стресу та нормалізація протеїназно-інгібіторного балансу.

Таким чином дисертанту вдалося в повному обсязі реалізувати поставлену мету дисертаційного дослідження.

Практичне значення одержаних результатів

Проведені значна за обсягом робота і теоретичне узагальнення результатів по вивченню і доповненню біохімічних механізмів розвитку патологічних змін у великих слинних залозах щурів на тлі індукованої діабетичної, хіміотоксичної і алкогольної нейропатії та їх метаболічна корекція дає змогу реалізувати отримані здобутки в клінічну практику різного профілю в якості терапії супроводу відповідних ускладнень.

Отримані, в ході виконання даної роботи, результати дослідження, положення та висновки впроваджено в навчальний процес і науково-дослідну роботу профільних кафедр ЗВО України. Крім того, наукові положення впроваджені в матеріали трьох технологій.

Оцінка змісту дисертації

Дисертаційна робота викладена на 199 сторінках принтерного тексту, побудована по загальноприйнятим планом, проілюстрована 12 таблицями, 63 рисунками. Складається із «Вступу», «Огляду літератури», розділу «Матеріали та методи дослідження», двох розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів дослідження», висновків та списку використаних джерел. Бібліографія вміщує 316 джерел наукової інформації, із них: 23 – вітчизняних авторів і 293 – зарубіжних.

У «Вступі» досить чітко та обґрунтовано сформульовано актуальність вибраного напрямку наукової роботи, представлено мету й завдання дисертації, об'єкт, предмет та методи дослідження, викладено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача,

апробацію результатів дослідження, структуру та обсяг дисертаційного дослідження.

Мета дослідження відповідає рівню дисертацій представлених на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Відповідно до мети поставлено 5 завдань для її виконання. Усі складові вступу сформульовано доступно і зрозуміло.

«Огляд літератури» викладено на 24 сторінках та складається із 2 підрозділів, у яких в логічній послідовності представлено аналіз наукової інформації щодо механізмів розвитку нейропатій різного генезу, її вплив на організм та обґрунтування шляхів корекції патологічних змін за умов нейропатії.

Так, зокрема, **підрозділ 1.1** присвячено статистичним даним поширеності нейропатії та питанням безпосередньо функціональному навантаженню слинних залоз на рівні організму, їх зв'язок з іншими органами, системами та механізми розвитку в них патологічних змін на тлі діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.. Також, акцентовано увагу на сучасних уявленнях про полінейропатію, як патологію на рівні всього організму з реалізацією процесу у вигляді множинного ураження периферичних нервів. Значна увага приділена патофізіологічним механізмам розвитку нейропатії з детальним описом механізму пошкодження тіла клітини, аксона, мієлінової оболонки або їх комбінації. Крім того, в підрозділі, доречно, наведений чіткий перелік характерних загальних клінічних симптомів, що розширює уявлення про тяжкість даного ураження і тим самим обумовлює актуальність проблеми, яку намагається вирішити автор.

Інформація в підрозділі подана дуже логічно, об'ємно, аргументовано, з підтвердженням на посилання даних, приведеними іншими науковцями.

Підрозділ 1.2 «Сучасні принципи патогенетичної терапії нейропатії» присвячений питанням профілактики нейропатії та сучасним поглядам на методи її патогенетичної терапії, а саме за допомогою комплексу вітамінів групи В та АТФ.

Таким чином, на підставі узагальнення даних достатньої кількості літературних джерел, дисертант фахово і аргументовано визначив актуальність вибраного напрямку наукового дослідження.

Розділ II «Матеріали та методи досліджень» викладено на 11 сторінках, розподілено на 5 підрозділів. В розділі наведена характеристика експериментальних досліджуваних 8 груп, до яких входили нелінійні щури обох статей масою тіла 180-220 г, всього 113 тварин. Детально описані експериментальні моделі діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.

Дана вичерпна характеристика біохімічним методам дослідження сироватки крові та гомогенату піднижньощелепних і під'язикових слинних залоз тварин за умов моделювання діабетичної, паклітаксел-індукованої та алкогольної нейропатії.

Детально описаний метод світлової мікроскопії цифровим мікроскопом Levenhuk D740T з цифровою мікрофотонасадкою, за допомогою якого проводили морфологічне дослідження слинних залоз щурів за умов експериментальної стрептозоцин-індукованої діабетичної нейропатії та її корекції.

Всі методи дисертаційного дослідження адекватні поставленим завданням, а статистичні методи обробки їх результатів дозволили об'єктивно оцінити отримані дані та підтверджують ефективність використання комплексу вітамінів тіамінпірофосфату, нікотинаміду, ціанокобаламіну та АТФ для корекції розвитку патологічних змін у великих слинних залозах за умов індукованої діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії.

Досліди проведені згідно біоетичних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директив Ради Європи 2010/63/EU (2010), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001-2019), що засвідчено комітетом з біоетики ПДМУ (протокол № 181 від 26.03.2020, № 225 від 21.03.2024).

Розділ III. «Особливості розвитку патологічних змін у слинних залозах та сироватці крові щурів за умов нейропатії» займає 29 сторінок, ілюстрований 31 рисунками, 3 таблицями, має 6 підрозділів, у яких викладено результати біохімічних методів дослідження сироватки крові, гомогенату та морфологічного дослідження великих слинних залоз.

В розділі дисертантом приведено дані щодо вивчення порогу больової чутливості (ПБЧ) у щурів 3, 5, 7 груп спостереження з метою підтвердження розвитку нейропатії. Для цього застосовували тензоалгометричний метод Randall-Selitto. Для порівняння була задіяна 1 група інтактних щурів.

На підставі узагальнення отриманих результатів зафіксоване зростання ПБЧ за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та розчину етанолу зростаючої концентрації, що підтверджує розвиток та прогресування периферичної нейропатії.

Також наводяться дані стосовно того, що за умов експериментальної стрептозоцин-, паклітаксел-індукованої та алкогольної нейропатії спостерігалось, стійке пригнічення активності α -амілази слинних залоз майже в 2 рази, порівняно з контрольною групою щурів.

Приведений в розділі аналіз результатів дослідження розвитку карбонільно-оксидативного стресу у піднижньощелепних та під'язикових слинних залозах тварин за умов індукованої нейропатії, свідчать про достовірні, проте, різноспрямовані зміни показників ТБК-реактивних, молекул середньої маси, окисно-модифікованих білків у порівнянні з контрольною групою щурів. Так, активність каталази за умов діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії становила $0,88 \pm 0,05$; $0,35 \pm 0,047$; $0,68 \pm 0,06$ ($P_{1-7} > 0,05$) відповідно проти $0,74 \pm 0,034$ у контролі.

Узагальнення цих даних конкретизує, безпосередньо, біохімічні ланки механізмів розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної, алкогольної нейропатії.

Безперечно важливим компонентом розділу є дані отримані в ході гістологічного дослідження слинних залоз щурів за умов стрептозоцин-

індукованої нейропатії, які вказували на суттєві патологічні зміни клітинних структур паренхіми, протокової системи та наявність периацинарного набряку.

В кінці розділу представлені узагальнені, аргументовані висновки та список публікацій по даному розділу.

Розділ IV «Вплив комплексу кокарбоксілази, нікотинамід, ціанокобаламіну та атф на патологічні зміни у слинних залозах щурів та сироватці крові за умов нейропатії» займає 32 сторінки, ілюстрований 29 рисунками, 9 таблицями, складається із 4 підрозділів, в яких наведено дані стосовно біохімічних показників у сироватці крові та слинних залозах тварин 4, 6, 8 груп спостереження.

Розділ присвячено висвітленню аналізу результатів біохімічних досліджень сироватки крові, гомогенату слинних залоз щурів та гістологічного дослідження, отриманих після метаболічної корекції, раніше виявлених патологічних змін у слинних залозах щурів асоційованих з діабетичною, хіміотоксичною та алкогольною нейропатією.

В якості корекції нейропатії автором було запропоновано комплекс вітамінів групи В (кокарбоксілазу, нікотинамід, ціанокобаламін) у поєднанні з АТФ, який вводили тваринам шляхом ін'єкцій протягом 9 днів.

Узагальнення результатів отриманих даних щодо дослідження порогу больової чутливості за тестом Randall-Selitto у щурів 4, 6, 8 груп спостереження вказувало на статистично достовірне покращення ситуації стосовно відновлення ПБЧ до рівня інтактних тварин.

Також, за результатами проведених біохімічних досліджень гомогенату піднижньощелепних та під'язикових слинних залоз щурів 4, 6, 8 груп спостереження, автором доведений позитивний вплив корекції на білоксинтетичну функцію залоз, на що вказувало зростання активності α -амілази в середньому 1,5 рази порівняно з тваринами 3, 5, 7 груп спостереження без корекції.

Крім того, автором було встановлено відновлення показників про- та антиоксидантної системи, зниження вмісту ТБК-реактивних, молекул середньої

маси, окисно-модифікованих білків у порівнянні з групами тварин з індукованою нейропатією без корекції. Зокрема, при експериментальній токсичній нейропатії, вміст молекул середньої маси та окисно-модифікованих протеїнів вірогідно знижувався у 1,2 та в 1,3 рази, відповідно, порівняно з показниками у тварин без корекції. При алкогольній нейропатії за умов корекції, вміст ТБК-реактивів, окисно-модифікованих білків, молекул середньої маси вірогідно знижувався у 1,34; 1,32; 2,1 рази відповідно, порівняно з групою спостереження без корекції.

Дослідження патоморфологічних змін у піднижньощелепних слинних залозах за умов корекції не виявило суттєвих змін у їх клітинних структурах, проте, явища периацинарного набряку помітно були меншими.

Таким чином, проведені дисертантом узагальнення та статистичний аналіз результатів, викладені в даному розділі, дозволили визначити позитивний вплив введення нейротропних вітамінів та АТФ на біохімічні ланки розвитку патологічних змін у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної, алкогольної нейропатії та дало змогу сформулювати і представити чіткі аргументовані висновки в кінці розділу.

В розділі V « Аналіз та узагальнення результатів дослідження», який викладено на 33 сторінках, наведено всебічний обґрунтований підсумок дисертаційного дослідження. Автор зуміла вдало порівняти, узагальнити та інтерпретувати отримані результати власних досліджень і співставити їх із результатами досліджень інших науковців.

Проведене автором порівняння особистих наукових напрацювань, викладених в основному змісті роботи, щодо результатів дослідження отриманих в різних групах спостереження піддослідних щурів та зроблені переконливі висновки, дозволили констатувати новизну проведеної наукової роботи і засвідчили переваги запропонованого авторського методу корекції індукованої нейропатії.

Висновки лаконічні, аргументовані, ґрунтуються на даних детального аналізу результатів проведених досліджень, відповідають меті та поставленим завданням.

Список використаних джерел літератури містить 316 джерела (з них кирилицею – 23, латиницею – 293), які є інформативними та відповідають основному змісту дисертації.

Зауваження

1. Доречно було б підрозділ 1.1 за наповненням інформації, яка в ньому подана, розділити на два підрозділи.

Запитання

1. Чому Ви не використовували в якості матеріалу для дослідження привушні слинні залози щура?
2. За рахунок чого, на Вашу думку, зменшується активність амілази у слинних залозах щурів за умов діабетичної, хіміотоксичної та алкогольної нейропатії?
3. Які механізми активації перекисного окиснення ліпідів у слинних залозах за умов введення стрептозоцину, паклітакселу та етанолу?

ВИСНОВОК

Дисертаційна Тихонович Ксенії Володимирівни «Біохімічні механізми впливу нейропатії на слинні залози тварин» представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія являється самостійним завершеним науковим дослідженням, в якому отримані науково обґрунтовані та системно розглянуті результати в сукупності розв'язують важливу задачу біології та біохімії стосовно конкретизації закономірностей біохімічних механізмів розвитку патологічних змін у великих слинних залозах щурів за умов стрептозоцин-, паклітаксел-, етанол-індукованих нейропатій з обґрунтуванням застосування комплексу вітамінів тіамініпрофосфату, нікотинамиду, кобаламіну та АТФ з метою їх корекції.

Робота виконана на відповідному методичному рівні, ґрунтується на узагальненні достатньої кількості спостережень, проведенні біохімічних, фізіологічних, фармакологічних, біофізичних, гістологічних, статистичних досліджень, що дозволило автору сформулювати достовірно аргументовані наукові положення та висновки.

Основні здобутки знайшли відображення в 21 науковій праці. Крім того, результати дисертаційних напрацювань оприлюднені автором на 12 зібраннях різного рівня і тематичного спрямування.

Впровадження результатів дисертаційного дослідження в навчальному і науково-дослідному процесах профільних кафедр ЗВО України вказують на вагомість виконаної наукової роботи та її перспективність.

За актуальністю, рівнем виконання, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю висновків, їх достовірністю і повнотою викладення в опублікованих працях, дисертаційна робота Тихонович Ксенії Володимирівни «Біохімічні механізми впливу нейропатії на слинні залози тварин» відповідає вимогам, затвердженими Наказом Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 р. №40 та постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 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», а Тихонович К.В. заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

Доктор філософії за спеціальністю
221 – Стоматологія,
доцент закладу вищої освіти кафедри
дитячої хірургічної стоматології
Полтавського державного медичного університету

Ю.В. Попело