

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, професора кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О.Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України

Павлової Олени Олексіївни

на дисертаційну роботу Романцевої Тамари Олександрівни на тему: «Метаболічні розлади сльозових залоз за умов формування системної запальної відповіді та їх корекція модуляторами специфічних факторів транскрипції», яка подана до разової спеціалізованої вченої ради при Полтавському державному медичному університеті МОЗ України на здобуття ступеня доктора філософії (PhD) в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Ступінь актуальності обраної теми. Порухення функції сльозових залоз і розвиток синдрому сухого ока в останні роки розглядаються не лише як ізольована офтальмологічна патологія, а як складова системної дисрегуляції, що ґрунтується на активації прозапальних сигнальних та редокс-залежних механізмів при синдромі системної запальної відповіді (СЗВ). Росповсюдженість патологій що супроводжуються СЗВ (метаболічний синдром, цукровий діабет 2 типу, та ін.), визначає доцільність аналізу структур, чутливих до системного ушкодження. Сльозові залози є чутливими до порушень тканинної перфузії та енергетичного забезпечення, у зв'язку з чим стають потенційною мішенню при системному запальному ушкодженні в процесі якого відбувається структурно-функціональна перебудова ацинарного апарату залози, стійке зниження екзокринної функції і формування гіпосекреції. Сучасні терапевтичні підходи до лікування синдрому сухого ока здебільшого мають симптоматичний характер і не враховують глибинні молекулярні механізми, які лежать в основі дисфункції сльозових залоз при системному запаленні. Тому, безумовно, особливої наукової значущості набуває вивчення впливу транскрипційних факторів NF-

κB і Nrf2 дисбаланс яких визначає напрямок розвитку патологічного процесу. У зв'язку з цим патогенетично обґрунтованим і перспективним є й вивчення можливості фармакологічної модуляції зазначених транскрипційних факторів з метою відновлення клітинного редокс-гомеостазу, корекції порушень метаболізму L-аргініну та стабілізації функціональної активності сльозових залоз. Таким чином, актуальність обраної здобувачкою теми наукового дослідження не викликає сумнівів є своєчасною, науково обґрунтованою і відповідає сучасним науковим тенденціям розвитку патофізіології та офтальмології, а отримані результати створюють підґрунтя для розробки патогенетично орієнтованих терапевтичних підходів і подальших клінічних досліджень.

Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є самостійним фрагментом планової науково-дослідницької теми Полтавського державного медичного університету МОЗ України «Високо- та низько інтенсивні фенотипи системної запальної відповіді: молекулярні механізми та нові медичні технології їх профілактики та корекції» (державний реєстраційний номер: 0124U000092). Здобувачка є співвиконавцем НДР.

Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Робота Романцевої Тамари Олександрівни виконана на сучасному науково-методологічному рівні, ґрунтується на достатньому за обсягом експериментальному матеріалі (загалом 42 білих щура-самця лінії Вістар масою 220-250 г.) із використанням високоінформативних патофізіологічних, біохімічних, статистичних методів обраних відповідно до логіки та завдань дослідження. Достовірність отриманих в дисертації результатів забезпечена вірним методологічним та методичним підходами. Етапи дослідження виконані послідовно та узгоджено із загальною концепцією роботи

Перед початком виконання наукової роботи авторкою здійснено ґрунтовний аналіз і узагальнення сучасних наукових джерел з означеної

проблематики, чітко визначено мету, об'єкт і предмет дослідження, сформульовано чотири наукові завдання та обґрунтовано дизайн експерименту; визначено критерії включення лабораторних тварин до дослідження і задекларовано дотримання принципів біоетики при проведенні експериментів із використанням тварин, що підтверджено відповідним рішенням комісії з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 245 від 22.01.2026) і свідчить про відповідальне ставлення автора до етичних аспектів наукової роботи.

Групи спостереження сформовані відповідно до мети та завдань дослідження та відповідають вимогам обґрунтованості і коректності статистичного аналізу. Отримані результати, представлені у таблицях і рисунках, детально описані в тексті дисертації та повною мірою відображають обсяг проведених досліджень.

Статистичну обробку даних виконано із застосуванням параметричних (t-критерій Стьюдента, однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з пост-хок тестом Tukey's HSD) та непараметричних (критерій Шапіро–Вілка, U-критерій Мана–Вітні, критерій Крускала–Уоліса) методів із використанням програмного забезпечення Microsoft Excel з надбудовою Real Statistics 2019. Обрані статистичні підходи відповідають типу розподілу даних та структурі вибірки.

Таким чином, сучасний методичний рівень виконання роботи, відповідність вибірки критеріям репрезентативності, висока інформативність застосованих методів дослідження та адекватність статистичного аналізу дають підстави вважати отримані результати, сформульовані наукові положення, висновки та рекомендації достовірними і науково обґрунтованими.

Наукова новизна отриманих результатів. Полягає у комплексному експериментальному обґрунтуванні молекулярно–метаболических механізмів ушкодження сльозових залоз за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Уперше доведено, що системне введення

ліпополісахариду *Salmonella typhi* спричиняє загальнозапальні системні і специфічні метаболічні зміни у слъзових залозах, що зумовлені дисрегуляцією системи L-аргінін-оксид азоту, пригніченням аргіназного та орнітиндекарбоксилазного шляхів і розвитком оксидативно-нітрозативного стресу.

Обґрунтовано провідну роль редокс-чутливих транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у регуляції виявлених порушень. Показано, що модуляція їх активності визначає спрямованість метаболічних зсувів – від прозапального, деструктивного до відновлювального, репаративного типу відповіді.

Уперше продемонстровано, що застосування синтетичних і природних модуляторів NF-κB та Nrf2 нормалізує ключові ланки метаболізму L-аргініну, зменшує надлишкову генерацію супероксидного аніон-радикалу, пероксинітриту і S-нітрозотіолів та відновлює активність орнітиндекарбоксилази, що свідчить про активацію репаративних процесів.

Отримані результати суттєво розширюють уявлення про патогенез ураження слъзових залоз при системній запальній відповіді та формують експериментальне підґрунтя для патогенетично орієнтованої корекції виявлених порушень.

Теоретичне та практичне значення роботи. Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням Одержані авторкою результати мають суттєве теоретичне значення, оскільки поглиблюють сучасні уявлення про механізми ураження слъзових залоз за умов системної запальної відповіді та доповнюють дані щодо ролі оксидативно-нітрозативного стресу та порушень метаболізму L-аргініну в розвитку структурно-функціональних змін слъзових залоз. У роботі обґрунтовано значення редоксчутливих транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 як ключових регуляторних ланок, що визначають співвідношення між прозапальними та адаптаційно-компенсаторними механізмами у тканинах слъзових залоз. Запропоновано комплексний підхід до оцінки функціонального стану різних ізоформ NO-синтази як інтегрального показника дисрегуляції аргінін-NO-залежного

метаболичного каскаду. Крім того, продемонстрована в роботі можливість і ефективність патогенетично обґрунтованої корекції виявлених системних і локальних порушень шляхом застосування синтетичних і природних модуляторів сигнальних шляхів NF-κB і Nrf2 формує підґрунтя для подальших фундаментальних досліджень у галузі патофізіології запалення та відкриває перспективи їх використання у доклінічних і клінічних дослідженнях. Практичну цінність проведених досліджень підтверджено оформленням реєстраційної картки технології.

Впровадження отриманих результатів. Одержані дисертантом результати впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили МОН України.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За темою дисертаційної роботи Романцевої Тамари Олександрівни опубліковано 12 наукових праць, у яких повною мірою відображено основні положення та результати проведених досліджень. Зокрема, опубліковано 4 статті, серед яких 1 – у фаховому виданні категорії А, що індексується міжнародною наукометричною базою Scopus; 1 – у закордонному періодичному виданні, що належить до першого квартиля (Q1) бази Scopus; 2 – у наукових фахових виданнях України категорії Б (або В – залежно від чинної класифікації). Крім того, опубліковано 7 тез доповідей у матеріалах з'їздів, конгресів і науково-практичних конференцій. Результати дослідження апробовані та неодноразово представлені на наукових форумах різного рівня.

Опубліковані праці повністю відображають зміст і обсяг дисертаційної роботи.

Оцінка структури дисертації. Дисертаційна робота Романцевої Тамари Олександрівни викладена державною мовою на 201 сторінці комп'ютерного набору, ілюстрована 40 рисунками та 8 таблицями та побудована відповідно встановленим вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії: складається з анотації, вступу, опису матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, переліку використаних джерел літератури, який містить 282 джерела (з них 39 – кирилицею, 243 – латиницею).

В *анотації* стисло представлені основні результати проведеного дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У *вступі* визначена актуальність вибраного авторкою напрямку дослідження, зазначений зв'язок дисертаційної роботи з науково-дослідними роботами, чітко сформульована мета та визначені завдання дослідження, зазначені об'єкт, предмет та методи дослідження. Представлено також інформацію щодо наукової новизни та практичного значення одержаних результатів, впровадження матеріалів дослідження, апробації результатів дослідження, кількості опублікованих наукових праць, обсягу та структури дисертації.

Перший розділ дисертаційної роботи присвячений огляду літератури з досліджуваної проблеми. Складається з двох підрозділів у яких представлені сучасні уявлення про механізми патогенної дії системної запальної відповіді на метаболізм і функції слюзових залоз людини та тварин. Наведені дані про роль транскрипційних факторів у формуванні прозапальних і цитопротекторних реакцій обґрунтовано доцільність дослідження NF-κB і Nrf2 в умовах ЛПС-індукованої СЗВ з метою уточнення механізмів ушкодження слюзових залоз та оцінки можливостей їх фармакологічної модуляції. Огляд літератури логічно побудований, змістовний, та свідчить

про глибоке знання здобувачкою своєї наукової теми.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» авторкою наведено характеристику лабораторних тварин, залучених до експерименту, обґрунтовано принцип їх розподілу на групи, описано методику відтворення ЛПС (*Salmonella typhi*) – індукованої системної запальної відповіді та схеми введення специфічних і природних модуляторів транскрипційних факторів. У розділі представлено основні біохімічні методи дослідження показників системної запальної відповіді, аргінін–NO–залежного метаболізму, оксидативно-нітрозативного стресу та проліферативного орнітинового шляху на системному і локальному рівнях. Також наведено сучасні методи статистичної обробки отриманих результатів.

Третій розділ дисертаційної роботи складається з п'яти підрозділів, у яких наведено результати оцінки показників системного запалення та оксидативного метаболізму в крові й тканинах слюзових залоз щурів після тривалого (8-тижневого) внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi*. Отримані дані свідчать про формування системного та локального метаболічного дисбалансу, порушення регуляції гострофазової й антиоксидантної відповіді, а також зниження проліферативного потенціалу тканин, що відображає розвиток СЗВ.

У четвертому і п'ятому розділах, кожен з яких складаються з 5-ти підрозділів, представлені дані дослідження впливу специфічних (піролідиндитіокарбамат амонію (інгібітор NF-κB) і диметилфумарат (індуктор Nrf2)) та природних (кверцетин (інгібітор NF-κB) і сульфорафан (індуктор Nrf2)) модуляторів транскрипційних факторів на показники системного запалення та оксидативного метаболізму в крові та слюзових залозах щурів за умов введення ліпополісахариду *S. Typhi*. Показано, що системний протизапальним ефект синтетичних модуляторів є більш вираженим тоді як природні сполуки забезпечують стабільний, цитопротекторний вплив із відновленням редокс-балансу та метаболічної рівноваги в тканинах слюзових залоз.

Шостий розділ є завершальним, авторка з розумінням піднятої проблеми проводить аналіз отриманих результатів, порівнює їх з даними інших авторів які працюють у даному напрямку, піднімає дискусійні питання та адекватно їх вирішує. В даному розділі висвітлені основні, найбільш важливі положення роботи. На підставі отриманих результатів розроблено концептуальну схему участі редоксчутливих транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 у механізмах формування метаболічних порушень сльозових залоз за умов ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Показано, що дисбаланс між активацією NF-κB-залежних прозапальних та недостатністю Nrf2-опосередкованих цитопротекторних механізмів є ключовою ланкою розвитку оксидативно-нітрозативного стресу й зсуву L-аргінінового метаболізму. Експериментально обґрунтована доцільність і ефективність застосування фармакологічної модуляції NF-κB та Nrf2 як ефективного метода корекції системних і локальних метаболічних розладів при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді.

Висновки Представлено 7 висновків, які логічно виходять з результатів дисертаційного дослідження, та повністю відповідають його меті та завданням, є науково-обґрунтованими і повно висвітлюють результати і основні положення дисертаційного дослідження.

Відомості щодо відсутності порушень академічної доброчесності.

Під час аналізу матеріалів дисертаційної роботи Романцевої Тамари Олександрівни та опублікованих за її темою наукових праць ознак порушення принципів академічної доброчесності не виявлено. Зокрема, відсутні прояви академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації чи фальсифікації результатів дослідження. Отже, дисертаційна робота є самостійною, оригінальною, завершеною науковою роботою, виконаною з дотриманням вимог академічної доброчесності.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

Дисертаційна робота Романцевої Тамари Олександрівни виконана відповідно до чинних вимог МОН України та заслуговує позитивної оцінки. Принципових зауважень до змісту, структури й оформлення дисертації не виявлено.

Разом із тим, у процесі ознайомлення з матеріалами дослідження виникли окремі зауваження, що мають переважно дискусійний або редакційний характер і не знижують загальної наукової цінності роботи. Однак варто звернути увагу на окремі недоліки:

1. У тексті дисертаційної роботи подекуди трапляються поодинокі стилістичні та орфографічні неточності що не мають принципового значення та не знижують загальної наукової якості дисертації

2. У тексті дисертації поряд з абрєвіатурами, визначеними у переліку скорочень («СЗВ», «ЛПС», cNOS, iNOS), подекуди використовуються їх повні словесні форми («системна запальна відповідь», «ліпополісахарид-індукований», «індуцибельна/конститутивна NO-синтаза»). Уніфіковане використання термінів відповідно до поданого переліку скорочень сприяло б дотриманню єдиного стилю наукового викладу.

3. У розділі «Матеріали та методи дослідження» опис методики визначення активності NO-синтаз, обґрунтування вибору відповідних підходів, а також принцип розрахунку індексу спряженості конститутивної ізоформи як інтегрального критерію функціонального стану NO-синтазної системи подані недостатньо повно. Більш детальне й аргументоване методичне обґрунтування зазначених положень підвищило б інтерпретаційну цінність отриманих результатів і їх наукову переконливість.

4. Доцільним було б доповнити дослідження патоморфологічним аналізом слизових залоз та оцінкою експресії аквапорину-5 (AQP5) як маркера секреторної активності, що дозволило б співставити біохімічні показники (дисбаланс системи L-аргінін–NO, оксидативно-нітрозативний стрес) із функціональним станом ацинарного епітелію та більш повно

охарактеризувати ступінь порушення секреторної активності слюзових залоз за умов ЛПС-індукованої СЗВ.

Наведені зауваження не позначаються на обґрунтованості та вірогідності результатів, їх науковій новизні й практичній цінності та не впливають на загальну позитивну оцінку виконаної дисертаційної роботи.

В межах наукової дискусії доцільно було б обговорити й окремі питання:

1. Як Ви довели, що редукція iNOS і відновлення спряженості cNOS є саме наслідком модуляції NF-κB/Nrf2, а не вторинним ефектом загального зниження запальної відповіді?

2. Які молекулярні механізми лежать в основі підвищеної генерації супероксидного аніон-радикала з різних ферментативних джерел за умов системної запальної відповіді, та яким чином це посилює формування оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах слюзових залоз?

3. Відомо, що орнітиндекарбоксилаза визначає напрямок метаболізму L-аргініну в бік проліферативного (поліамінового), а не NO-залежного шляху. Чи може неконтрольована активація ферменту мати потенційні ризики розвитку гіперплазії або фіброзу у тканині слюзових залоз?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Романцевої Тамари Олександрівни на тему «Метаболічні розлади слюзових залоз за умов формування системної запальної відповіді та їх корекція модуляторами специфічних факторів транскрипції» є самостійним, завершеним науковим дослідженням, у якому наведено теоретичне узагальнення та здійснено нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у з'ясуванні закономірностей впливу специфічних і природних модуляторів редокс-чутливих факторів транскрипції (інгібіторів NF-κB та індукторів сигнального шляху Nrf2 – антиоксидант респонсивний елемент) у патогенезі метаболічних розладів слюзових залоз щурів за умов відтворення ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді.

За методичним рівнем виконання досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням одержаних результатів, повнотою їх оприлюднення у наукових публікаціях, а також за рівнем оригінальності тексту (відсутністю порушень принципів академічної доброчесності) дисертація відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України від 22 січня 2022 року № 44 та вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року № 40, а авторка дисертації, Романцева Тамара Олександрівна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина.

Офіційний опонент –

Професор кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології імені Д.О.Альперна
Харківського національного
медичного університету МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

Олена ПАВЛОВА