



ВІДГУК

рецензента кандидата медичних наук

МИКИТЕНКА АНДРІЯ ОЛЕГОВИЧА,

доцента кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського

державного медичного університету, на дисертаційну роботу

НЕСТУЛІ КАТЕРИНИ ІГОРІВНИ

«Участь транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації», представлену до захисту у разову спеціалізовану Вчену раду Полтавського державного медичного університету, що утворена згідно наказу № 357 від 10 жовтня 2024 року для розгляду

на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань – 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 – «Медицина»

1. Актуальність вибраної теми дисертації.

Хронічне споживання надмірної кількості алкоголю призводить до розвитку остеопенії і підвищує ризик остеопорозу. Враховуючи той факт, що 40% пацієнтів з ортопедичними травмами, які поступають у відділення невідкладної допомоги, мають підвищений рівень алкоголю в крові, а також клінічні дослідження в яких виявлено, що алкоголь не лише підвищує ризик перелому, але і порушує процес регенерації (первинного і вторинного зрощення перелому) тема дослідження, яка розглядається в дисертації представляє значну медико-біологічну та соціально-економічну проблему. Остеопенія, спричинена алкоголем, відрізняється від остеопорозу спричиненого менопаузою та інших видів вторинного остеопорозу. Недостатність гонад збільшує швидкість ремоделювання кісток, тоді як алкоголь зменшує цю швидкість. Таким чином, остеопенія, спричинена алкоголем, є результатом, головним чином, порушення процесу формування кісток, а не збільшення кісткової резорбції. Дослідження впливу алкоголю на кістки на людях, тваринах і клітинних культурах



переконаливо свідчать про дозозалежну токсичну дію алкоголю на активність остеобластів. Здатність стромальних клітин кісткового мозку диференціюватися в остеобласти відіграє важливу роль у ремоделюванні кісток протягом всього життя. Хронічне вживання алкоголю пригнічує остеобластичну диференціацію клітин кісткового мозку та сприяє адипогенезу. Під час загоєння переломів вплив алкоголю полягає в пригніченні синтезу матриці, яка здатна до окостеніння, можливо, через пригнічення клітинної проліферації та порушення диференціації мезенхімальних клітин у кістковій тканині, що відновлюється. Це призводить до порушення процесу зрощення перелому кісток, що спостерігається в дослідженнях на тваринах і характеризується меншою міцністю та вмістом мінеральних речовин у кістковій тканині, що відновлюється шляхом репаративної регенерації. Сучасних даних досліджень про клітинний метаболізм та молекулярні механізми розвитку захворювань кісток за умов хронічного вживання алкоголю недостатньо для розробки інтервенційних стратегій їх профілактики та лікування.

Відомо, що транскрипційний ядерний фактор каппа В (NF- κ B) та система Nrf2 / антиоксидант-респонсивний елемент (ARE) залучені до механізмів репараційної регенерації, і також мають суттєвий вплив на розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в кістковій тканині за умов хронічної алкогольної інтоксикації, але точні клітинні та молекулярні механізми, за допомогою яких це відбувається, все ще вивчені не повністю.

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, а також вірогідність отриманих результатів.

Дисертаційна робота виконана на достатньому методичному рівні з використанням комплексу сучасних експериментальних, біохімічних, біомеханічних, морфологічних та математико-статистичних методів дослідження.



9030633852233948

Експериментальні дослідження були проведені на 70 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 225 ± 20 г, яких утримували в умовах 12-годинного циклу світло-темрява при контрольованій температурі ($22,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$) і вологості ($55,0 \pm 5,0\%$). Щурам забезпечували належний догляд, з необмеженим доступом до стандартного комбікорму (відповідно до норм повноцінного раціону) та водопровідної води. Перед введенням у наркоз щурів відлучали від корму за 12 годин.

Авторкою представлені положення, висновки та рекомендації, що відповідають отриманим даним і є логічними наслідками результатів досліджень. Методики біохімічних досліджень, що описані в роботі, можуть бути відтвореними і повністю відповідають меті та завданням дослідження. Статистичне опрацювання даних проведено в повному обсязі.

Дисертацію побудовано за класичною схемою, складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 2-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 219 літературних джерел, 3-х додатків. Більшість робіт виконано в останні 15 років, отже, робота є сучасною.

Характеристика змісту роботи. Анотація оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, наведено список праць, у яких опубліковано наукові результати дисертації.

Огляд літератури, викладений на 23 сторінках тексту, охоплює достатню кількість літературних джерел. У цьому розділі висвітлено сучасні уявлення про клітинні та молекулярні механізми ремоделювання кісткової тканини та процес репаративної регенерації, що відбувається за умов зрощення переломів кісток. Представлені сучасні уявлення про роль редокс-чутливих транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 у механізмах репаративного остеогенезу. Можна зробити висновок, що авторка здатна кваліфіковано аналізувати інформацію літературних джерел щодо свого наукового напрямку.



Виділені основні проблеми, які недостатньо вивчені. Дисертантка виявила свою ґрунтовну обізнаність у питанні, якому присвячена дисертаційна робота.

Мета і завдання дослідження є логічними висновками основних положень огляду літератури.

Розділ 2 (матеріали і методи досліджень) викладено повно. Результати наукових досліджень підлягали статистичному опрацюванню.

Розділ 3 присвячений вивченню метаболічних, біомеханічних та патоморфологічних характеристик кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження за умов хронічної алкогольної інтоксикації, зокрема, зміни біохімічних маркерів ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини, показники нітроксидергічної системи, деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу, тензометричну та патоморфологічну характеристику кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту.

Розділи 4 висвітлює результати впливу модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B та Nrf2 на метаболічні, біомеханічні та патоморфологічні характеристики кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження за умов хронічної алкогольної інтоксикації, зокрема, на біохімічні маркери ремоделювання та репаративної регенерації кісткової тканини, на показники нітроксидергічної системи та деполімеризації біополімерів позаклітинного органічного матриксу кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту, а також вплив біофлавоноїду кверцетину на тензометричну та патоморфологічну характеристику кісток нижньої щелепи щурів за умов експерименту.

У розділі “Аналіз та узагальнення результатів” подано професійний аналіз отриманих результатів представлених в попередніх розділах роботи та пояснення змін метаболізму кісток нижньої щелепи щурів у посттравматичному періоді після їх дозованого ушкодження за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Обговорення результатів дозволило автору підсумувати, що проведені дослідження вирішили основні завдання дисертації.



Вважаю, що отримані в роботі наукові дані обґрунтовані, мета, поставлена в роботі, досягнута, завдання вирішені.

Новизна дослідження та одержаних наукових результатів. Без сумніву, робота має наукову новизну, яка полягає у тому, що авторкою вперше показано, що дозоване ушкодження нижньої щелепи (модель неповного перелому нижньої щелепи) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації супроводжується на 14-ту добу посттравматичного періоду вірогідним збільшенням активності ферментів-маркерів резорбції кісток у сироватці крові – кислої фосфатази та її кісткової (тартратрезистентної) ізоформи. Окремий вплив травми та етанолу суттєво не впливає на активність цих ферментів.

Вперше показано, що на 14-ту добу після відтворення дозованого ушкодження нижньої щелепи (моделі її неповного перелому) на тлі хронічної алкогольної інтоксикації NO-синтазна активність та вміст пероксинітритів у гомогенаті кістки перевищує результати груп з окремою дією травматичного чинника та етанолу. За цих умов значно знижується активність у гомогенаті нижньої щелепи орнітиндекарбоксилази, ключового ферменту біосинтезу поліамінів, зростає деполімеризація біополімерів кісткової тканини (колагену, глікопротеїнів і протеогліканів), порушуються біомеханічні характеристики кістки в зоні ураження та темп її регенерації, що не відбувається за умов окремого впливу травми та етанолу.

Вперше виявлено, що призначення модуляторів транскрипційних факторів NF- κ B і Nrf2 піролідиндитіокарбамату амонію, диметилфумарату та біофлавоноїда кверцетину підвищує у посттравматичному періоді після дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації резорбцію кісток, знижує активність NO-синтази (за рахунок індукційної ізоформи) та концентрацію пероксинітритів, зменшує деполімеризацію колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів у гомогенаті нижньощелепної кістки.

Вперше показано, що введення кверцетину за умов експерименту суттєво покращує на 14 добу посттравматичного періоду біомеханічні властивості



9030633852233948

нижньощелепної кістки у ділянці перелому, збільшує її пружність і міцність, покращує процес репаративної регенерації.

Практичне значення одержаних результатів і можливі шляхи їх використання.

Отримані результати можуть бути використані для покращення діагностики ускладнень при переломах нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації шляхом моніторингу активності кислої фосфатази та її кісткової ізоформи в сироватці крові.

Дані про вплив модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 можуть бути основою для розробки нових терапевтичних підходів, що спрямовані на зниження резорбції кісткової тканини та покращення її відновлення після травм, особливо у пацієнтів з хронічною алкогольною інтоксикацією.

Результати дослідження свідчать про потенційну користь застосування кверцетину як засобу, що покращує біомеханічні характеристики кісток та прискорює процес репаративної регенерації після переломів.

Дослідження показало, що хронічна алкогольна інтоксикація в поєднанні з травмами значно погіршує регенерацію кісткової тканини. Це може бути використано для підвищення обізнаності медичних працівників і населення про ризики алкоголізму та необхідність його контролю в період лікування переломів.

Виявлення негативного впливу нітрозативного стресу на регенерацію кісткової тканини відкриває можливість для розробки комплексних методів лікування переломів, які поєднують застосування модуляторів транскрипційних факторів NF-κB і Nrf2 з традиційними методами лікування переломів.

Одержано реєстраційну картку технології (РКТ) «Технологія експериментального моделювання перелому нижньої щелепи» (державний реєстраційний № 0624U000056).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ



9030633852233948

України, на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, на кафедрі патофізіології Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, на кафедрі медичної біології та хімії, біохімії, мікробіології, фізіології, патофізіології та фармакології Чорноморського національного університету ім. Петра Могили МОН України (м. Миколаїв).

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

За темою дисертації опубліковано 9 друкованих праць, з яких – 5 статей, а саме 3 статті у фахових журналах України категорії Б, 1 стаття у фаховому журналі України категорії А, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*; 1 стаття у іноземному періодичному виданні (Польща), що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*. Окрім того, опубліковано 3 тези доповідей у матеріалах конференцій, одержано 1 реєстраційну картку технології.

3. Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації. Позитивно характеризуючи дисертацію в цілому, необхідно звернути увагу на деякі її недоліки:

1. В розділі «Матеріали та методи» потребує уточнення модель активації транскрипційного фактора Nrf2 диметилфумаратом.

2. Зустрічаються поодинокі не зовсім вдалі вирази, граматичні та стилістичні помилки.

Зазначені недоліки та зауваження не стосуються змісту дисертації по суті та ніяким чином не зменшують її загальну високу позитивну оцінку.

У порядку дискусії хотілося би почути від авторки пояснення на такі питання:

1. Відомо, що вплив алкоголю на кісткову тканину залежить від тривалості і кількості етанолу. Чому Ви обрали саме таку модель хронічної алкогольної інтоксикації, яка її летальність?

2. Які механізми на Вашу думку забезпечили прискорення формування кровоносного мікроциркуляторного русла регенерата при введенні кверцетину



за умов дозованого ушкодження нижньої щелепи на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.

4. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Нестулі Катерини Ігорівни на тему: «Участь транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації» є закінченою науково-дослідною роботою, в якій містяться нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачкою досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медичної науки, а саме з'ясування ролі редокс-чутливих транскрипційних факторів NF-κB та Nrf2 у механізмах регенерації кісток нижньої щелепи після їх неповного перелому за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

Проаналізувавши дисертаційну роботу, стає зрозумілим, що здобувачка набула достатньо теоретичних знань, умінь, навичок та інших компетентностей, достатніх для продукування нових ідей, розв'язання комплексних завдань у галузі дослідницької діяльності, оволоділа методологією наукової та педагогічної діяльності, здійснила власне наукове дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення.

За актуальністю теми, мети та завдань, науковим рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною та обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій, теоретичним та практичним значенням, дисертація повною мірою відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 зі змінами, внесеними згідно з Постановою КМ від 21 березня 2022 р. № 341, від 19 травня 2023 р. № 502 та від 03 травня 2024 р. № 507 та оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» а Нестуля Катерина Ігорівна заслуговує на присудження ступеня доктора



9030633852233948

філософії галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222
«Медицина».

Рецензент:

доцент закладу вищої освіти
кафедри біологічної та біоорганічної хімії
Полтавського державного медичного університету,
кандидат медичних наук

А.О. Микитенко

На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ПТ Користувач ЦСК-1
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;
Цілісність даних: не порушена;



9030633852233948



Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)
Підписувач: Микитенко Андрій Олегович 3197314310;
Належність до Юридічної особи: ;
Код юридичної особи в ЄДР: 3197314310;
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 382367105294AF9704000002E2F3A0113F51903;
Видавець кваліфікованого сертифіката: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг;
Тип носія особистого ключа: Захищений;
Тип підпису: Кваліфікований;
Сертифікат: Кваліфікований;
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 08:27 19.11.2024;
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 08:27 19.11.2024;
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)