

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **Богданова Олексія Володимировича**

на тему: **«Роль компонентів системи оксиду азоту в патогенезі**

**ушкодження пародонта щурів за умов сполученого надлишкового**

**надходження нітрату та фториду натрію»,** подану до захисту на здобуття

наукового ступеня кандидата медичних наук

за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – до спеціалізованої

ради Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті

**1. Актуальність обраної теми дисертації.** Епідеміологічні дослідження останніх років свідчать про високу поширеність основних стоматологічних захворювань населення в екологічно несприятливих регіонах. Захворювання пародонта посідають друге місце після карієсу за частотою та поширеністю. Залишається недостатньо з'ясованим патогенез цієї патології у мешканців екологічно несприятливих регіонів, зокрема забруднених нітратами та фторидами територій.

Відомо, що в країнах Європи існують регіони, де вміст неорганічних нітросполук і фторидів у джерелах водопостачання значно перевищує нормативні показники. В Україні це насамперед стосується низки населених пунктів Полтавської, Миколаївської, Харківської областей.

Виявлено, що універсальний механізм дії нітратів пов'язаний з утворенням оксиду азоту (NO). Ця молекула характеризується важкопрогнозованим характером дії на активність вільнорадикального окиснення, енергетичний обмін, проліферативні процеси, бере участь у патогенезі захворювань пародонта. Утворення NO знаходиться під контролем певних редокс чутливих факторів транскрипції, зокрема ядерного чинника каппа В (NF-κB), а також аргіназного шляху метаболізму L-аргініну.

Проте закономірності поєднаної дії нітратів і фторидів на тканини пародонта, зміни за цих умов процесів авторегуляції концентрації NO та генерації активних форм кисню та азоту все ще залишаються нез'ясованими. Вирішення цих питань дозволить розширити існуючі засоби попередження, лікування запально-дистрофічних захворювань пародонта у мешканців екологічно небезпечної (за нітратами та фторидами) місцевості, що свідчить про безперечну актуальність та своєчасність дисертаційного дослідження Богданова Олексія Володимировича.

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

Дисертація є самостійним фрагментом планових наукових робіт Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№ держреєстрації №0108U010079) та «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації №0114U004941). Здобувач є співвиконавцем тем.

Дисертантом обрані експериментальні, біохімічні та остеометричні методи дослідження, які виконані на достатньому методичному рівні та дозволяють повністю досягти поставленої мети та завдань. Математико-статистичні методи дослідження визначають вірогідність отриманих даних.

Експерименти виконані на 100 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г. При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1985 р.), основних правил належної лабораторної практики GLP (1981),

закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження".

Робота виконана зі застосуванням приладів, які пройшли державний метрологічний контроль. Матеріали, використані в дисертації, повністю відповідають вимогам, що висуваються до первинної документації, розглянуті та затверджені комісією з етичних питань та біоетики.

Використані методи дослідження відповідають сучасним вимогам.

Методики дослідження, що описані в роботі, можуть бути відтвореними і повністю відповідають меті та завданням дослідження.

Результати дисертаційного дослідження добре й зрозуміло представлено у таблицях. Цифровий матеріал повністю базується на фактичних даних, підданий математичному аналізу, відповідає первинній документації, що забезпечує достовірність отриманих результатів. Статистичне опрацювання даних проведено в повному обсязі.

Автором представлені положення, висновки та рекомендації, що відповідають отриманим результатам і являють собою логічний наслідок послідовно виконаних завдань дослідження. Висновки та практичні рекомендації чітко сформульовані, обґрунтовані на підставі рівня сучасної патофізіології та співставленні з літературними джерелами. Високий ступінь статистичної обґрунтованості й вірогідності наукових положень, висновків та практичних рекомендацій обумовлений достатньою кількістю матеріалу дослідження із застосуванням комплексу експериментальних методів дослідження.

Отримані результати дисертаційної роботи є актуальними, важливими та мають суттєву наукову новизну, що видно з достатньої кількості наведених та обговорених літературних джерел.

Дисертацію побудовано за класичною схемою. Вона містить анотацію, вступ, огляд літератури (займає 25 сторінок та містить 3 підрозділи), опис матеріалів і методів дослідження, 4 розділи з описом власних результатів дослідження, їх аналіз та узагальнення, висновки, практичні рекомендації,

список джерел літератури, додатки. Дисертація викладена на 185 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 34 таблицями та 4 рисунками. Наводяться посилання на 312 джерел (обсягом 39 сторінок), з них: 130 кирилицею та 182 латиницею.

### **Характеристика змісту роботи**

Анотація оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, наведено список праць, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації.

У вступі відображено актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовано мету та завдання дослідження, визначено наукову новизну роботи та її практичне значення, надана інформація про особистий внесок здобувача, апробацію результатів дослідження, публікації, обсяг і структуру дисертації.

В «Огляді літератури», який складається із 3 підрозділів і викладений на 25 сторінках тексту, проаналізовано значний обсяг даних сучасних досліджень щодо сучасних уявлень про механізми пошкодження тканин пародонта та роль у цьому процесі активних форм кисню і азоту, шляхів надходження та метаболізму нітратів і нітритів у організмі людини та тварин, джерел надходження та закономірностей патогенної дії фторидів на органи ротової порожнини. Ознайомлення з матеріалами розділу дозволяє зробити висновок, що автор здатний кваліфіковано аналізувати інформацію літературних джерел зі свого наукового напрямку. Дисертантом чітко окреслено основні проблеми, які недостатньо вивчені. Автор виявив високий рівень теоретичної підготовки та обізнаності з результатами наукових досліджень інших учених із зазначених у дисертації наукових питань. Мета і завдання дослідження є логічними висновками основних положень огляду літератури.

У розділі 2 «Матеріали і методи дослідження» наведена кількість та характеристика досліджуваних тварин, зазначені умови роботи з експериментальними тваринами, згідно зі стандартними нормативами

біоетики. Детально викладені методики відтворення хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію, уведення речовин для модифікації функціональної активності NO-синтази, рівня утворення пероксинітриту та активації NF-κB, методи лабораторних досліджень та методика розрахунку коефіцієнту оголення коренів молярів. Застосовані автором експериментальні моделі та методи верифікації показників, що досліджуються, є сучасними і дозволяють успішно вирішити поставлені у дисертації завдання. Результати наукових досліджень підлягали статистичному опрацюванню за допомогою наведених автором стандартних методів. Суттєвих зауважень до цього розділу не виникло.

Розділ 3 присвячений вивченню стану вільнорадикальних процесів і механізмів дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів за умов сумісного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію, в якому автор надає детальний опис патологічних змін, що розвинулись при поєднаному впливі зазначених сполук порівняно з їхньою окремою дією.

Зміни показників активності ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну у м'яких тканинах пародонта, утворення у них пероксинітриту та супероксидного аніон-радикала, концентрації ТБК-реактантів, активності каталази, вмісту вільного оксипроліну та гексуронових кислот у м'яких і твердих тканинах пародонта вказують на конкретні механізми розвитку за умов поєднаної нітратно-фторидної інтоксикації окисно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини пародонта.

Розділ 4 містить матеріали дослідження про вплив інгібіторів та субстрату NO-синтаз на вільнорадикальні процеси і дезорганізацію сполучної тканини пародонта білих щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію.

Для зміни функціонального стану NO-синтази використовували селективні інгібітори нейрональної (7-нітроіндазол) та індучибельної (аміногуанідин) ізоформ ферменту, а також її субстрат - L-аргінін.

Розділ 5 присвячений з'ясуванню ролі пероксинітриту у механізмах активації вільнорадикальних процесів і дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. Дисертант використовував скевенджери пероксинітриту з різним механізмом дії - L-селенометіонін і сечову кислоту.

У розділі 6 автор надає детальний аналіз ролі NF-κB у патогенезі окисно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. Для оцінки ролі NF-κB автор застосовував інгібітор активації NF-κB JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл) бензол-1,2-діамін).

У розділі “Аналіз та узагальнення результатів” подано професійний аналіз та синтез отриманих результатів, представлених в попередніх розділах роботи з доцільним порівнянням з даними літератури. 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.

**Наукова новизна дисертаційної роботи.** Уперше виявлено, що сукупний вплив нітрату та фториду натрію викликає дизрегуляторні зміни активності ферментів NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну в м'яких тканинах пародонта, посилює генерацію активних форм кисню мікросомальним і мітохондріальним ланцюгами, збільшує генерацію супероксиду НАДФН-оксидазою лейкоцитів, потенціює пероксидне окиснення ліпідів, знижує активність каталази, посилює дезорганізацію сполучної тканини пародонта.

Автором уперше показано, що функціональна активність індукцибельної ізоформи NO-синтази за умов поєданої інтоксикації нітратом та фторидом натрію пригнічує у м'яких тканинах пародонта ферменти аргіназного шляху метаболізму L-аргініну, сприяє розвитку

окисно-нітрозативного стресу при зниженні антиоксидантного потенціалу. Важливим вважаю виявлення відмінностей у впливі нейрональної та індукцибельної ізоформ NO-синтази на дезорганізацію сполучної тканини пародонта.

Новацією є з'ясування закономірностей дії L-аргініну, скевенджерів пероксинітриту (L-селенометіонін та сечова кислота) та інгібітора активації NF-κB JSH-23 при моделюванні поєднаної хронічної інтоксикації нітратом і фторидом натрію, що супроводжується обмеженням окисно-нітрозативного стресу та дезорганізації сполучної тканини пародонта, що позначається на характері резорбції альвеолярних відростків щелеп.

**Практичне значення одержаних результатів і можливі шляхи їх використання.** Дисертаційна робота відноситься до фундаментальних досліджень. Одержані результати розширюють та поглиблюють існуючі уявлення про патогенез пошкодження пародонта щурів за умов токсичної дії важливих екологічних забруднювачів (нітратів, фторидів), що, в свою чергу, дуже важливо для вдосконалення принципів діагностики, патогенетичної терапії та профілактики екологічно-обумовлених захворювань пародонта.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі патофізіології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», кафедрі патологічної фізіології імені Д. О. Альперна Харківського національного медичного університету, кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені В. В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, кафедрах патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету та Національного фармацевтичного університету, м. Харків.

**Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових робіт. Результати дослідження опубліковано в 5 статтях у

фахових журналах України, що реферуються міжнародними наукометричними базами даних *PIHЦ*, *Index Copernicus International*, *Google Scholar*, 1 статті у фаховому журналі за кордоном (Польща), що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*, 10 робіт опубліковано у матеріалах конгресів і конференцій. У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи.

Автореферат дисертації за змістом і формою відповідає вимогам МОН України і містить усі основні положення дисертації.

### **3. Зауваження щодо змісту й оформлення дисертації та автореферату**

Дисертаційна робота дає привід для наукової дискусії та має деякі недоліки. Зауваження, які виникли при аналізі дисертації, не торкаються суті роботи і мають переважно рекомендаційний характер.

Зауваження та побажання:

1. У розділі 2.4 «Методика зміни режимів функціонування NO-синтаз, рівня утворення пероксинітриту та активності NF-κB» доцільно було б більш детально обґрунтувати періодичність призначення щурам інгібіторів NO-синтаз, скевенджерів пероксинітриту та інгібітора ядерної транслокації NF-κB.

2. У розділах 3-6 результати власних досліджень ілюстровано виключно таблицями. Наведення діаграм і графіків сприяло б кращому сприйняттю матеріалу.

3. У роботі проведено оцінення продукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним і мікросомальним електронно-транспортними ланцюгами у гомогенаті м'яких тканин пародонта. Проте точність визначення була би більш надійною при дослідженні цього процесу у виділених шляхом диференційного центрифугування мітохондрій і мікросом.

4. Є незначна кількість орфографічних та стилістичних помилок.



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

Окрім того, хотілося б почути точку зору дисертанта на питання, що виникли в процесі рецензування:

1. За якими критеріями Ви верифікували наявність нітратної та фторидної інтоксикації у експериментальних тварин?
2. Як ви можете пояснити патогенез окисно-нітрозативного стресу при поєднаній інтоксикації? У чому його відмінність від механізму негативної дії активних форм кисню та азоту при окремому впливі нітрату та фториду натрію?
3. З чим, на Вашу думку, пов'язана здатність екзогенного L-аргініну коригувати пероксидне окиснення ліпідів та обмежувати дезорганізацію сполучної тканини пародонта? Відомо, що ця амінокислота є субстратом індукцибельної ізоформи синтази оксиду азоту, яка, за Вашими даними, спричиняє наведені вище розлади.

#### **4. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Богданова Олексія Володимировича на тему: «Роль компонентів системи оксиду азоту у патогенезі ушкодження пародонта щурів за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію» виконана за фахом 14.03.04 – патологічна фізіологія (медичні науки) згідно з паспортом спеціальності, затвердженим постановою президії ВАК України від 11.09.2002 р. № 14-09/8 за пунктом 2.4 напрямків досліджень (моделювання патологічних станів, процесів і хвороб з метою вивчення загальних і спеціальних закономірностей порушень і відновлення діяльності органів і функціональних систем організму, а також експериментальної терапії цих порушень).

Робота є завершеним і самостійним науковим дослідженням, актуальна, виконана на достатньому експериментальному матеріалі з

використанням сучасних методів досліджень, містить оригінальні, принципові та суттєві, раніше не захищені наукові положення.

Проведений аналіз показує, що дисертація Богданова Олексія Володимировича на тему: «Роль компонентів системи оксиду азоту у патогенезі ушкодження пародонта щурів за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію» є кваліфікаційною науковою працею, в якій містяться нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачем досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медичної науки, а саме з'ясування ролі нейрональної та індукційної ізоформ NO-синтази, пероксинітритиду та NF-κB у механізмах пошкодження пародонта щурів за умов поєднаної токсичної дії нітрату та фториду натрію.

Вважаю, що робота Богданова Олексія Володимировича на тему: «Роль компонентів системи оксиду азоту у патогенезі ушкодження пародонта щурів за умов сполученого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію» відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент,  
доктор медичних наук, професор,  
професор кафедри патологічної фізіології  
імені Д. О. Альперна Харківського  
національного медичного університету  
МОЗ України



О.М. Шевченко

A large, stylized handwritten signature in blue ink, which appears to be 'А. Шейченко'.