

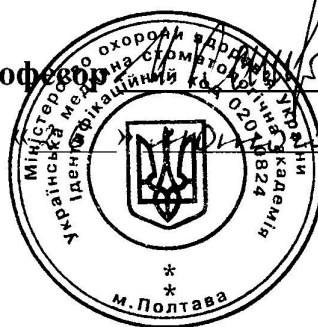
ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи

Української медичної

стоматологічної академії

професор



І.П.Кайдашев

2020 р.

**ВИСНОВОК ПРО НАУКОВУ НОВИЗНУ, ТЕОРЕТИЧНЕ ТА  
ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ  
за результатами фахового семінару при Українській медичній  
стоматологічній академії щодо попередньої експертизи дисертаційної  
роботи аспірантки  
КОВАЛЬОВОЇ ІРИНИ ОЛЕКСАНДРІВНИ  
за темою «МЕХАНІЗМИ МЕТАБОЛІЧНИХ І БІОМЕХАНІЧНИХ  
ПОРУШЕНЬ У КІСТКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОГО  
НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ  
НАТРІЮ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ»,  
поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
за спеціальністю  
222 – Медицина  
(протокол № 2 від 26 лютого 2020 року)**

Голова засідання - д.мед.н., професор Міщенко І.В.

Секретар засідання - к.б.н., доцент Соколенко В.М.

**На засіданні були присутні:** співробітники кафедри патофізіології: зав. каф., д.мед.н., професор Костенко В.О., к.мед.н., доцент Гришко Ю.М., к.мед.н., доцент Денисенко С.В., к.мед.н., доцент Міщенко А.В., к.мед.н., доцент Соловійова Н.В., к.мед.н., доцент Єлінська А.М.; проректор з наукової роботи, професор кафедри внутрішньої медицини №3 з фтизіатрією, д.мед.н., професор Кайдашев І.П.; співробітники кафедри фізіології: зав. каф., д.мед.н., професор Міщенко І.В., д.мед.н., проф. Весніна Л.Е., д.мед.н., професор Запорожець Т.М., к.б.н., доцент Соколенко В.М; співробітники кафедри біологічної та біоорганічної хімії: д.мед.н., професор Нетюхайло Л.Г., к.б.н., доцент Білець М.В., к.мед.н., доцент Омельченко О.Є., к.мед.н., Слободяник Н.М.; співробітники кафедри гігієни, екології та охорони праці в галузі: зав. каф., д.мед.н., професор Катрушов О.В., к.мед.н., доцент Матвієнко Т.М.; співробітники кафедри гістології, цитології та ембріології: зав. каф., д.мед.н., професор Шепітько В.І., д.мед.н., професор Єрошенко Г.А., співробітники кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією: зав. каф., к.мед.н., доцент Луценко Р.В., д.мед.н., професор Девяткіна Т.О.; зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, д.мед.н., професор Лобань Г.А.; зав. каф. соціальної медицини, громадського здоров'я, організації та економіки охорони здоров'я з лікарсько-трудовою експертизою, д.мед.н., професор Голованова І.А.; директор НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики к.мед.н., ст.н.сп. Шликова О.А.

**Всього присутніх: 24 особи.**

### **Порядок денний:**

Попередня експертиза дисертаційної роботи аспірантки кафедри патофізіології **Ковальнової Ірини Олександрівни** на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина.

Тема дисертації затверджена на засіданні проблемної комісії «Фундаментальні дисципліни» Української медичної стоматологічної академії (протокол №4 від 24 грудня 2015 року).

Дисертація виконана на базі Української медичної стоматологічної академії.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор Костенко Віталій Олександрович, завідувач кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії.

### **Рецензенти:**

Весніна Людмила Едуардівна, доктор медичних наук, професор, професорка кафедри фізіології УМСА, має 3 наукові публікації, опублікованих за останні п'ять років, за науковим напрямом, за яким підготовлено дисертацію здобувача, з яких 1 публікація у виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus та/або Web of Science Core Collection; не входила до складу разових спеціалізованих рад більше восьми разів протягом останнього року та не входить до числа близьких осіб здобувача; здобула науковий ступінь кандидата наук більш ніж за п'ять років до моменту створення спеціалізованої вченої ради.

Старченко Іван Іванович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії з секційним курсом, має 3 наукові публікації, опублікованих за останні п'ять років, за науковим напрямом, за яким підготовлено дисертацію здобувача, з яких 1 публікація у виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus та/або Web of Science Core Collection; не входив до складу разових спеціалізованих рад більше восьми разів протягом останнього року та не входить до числа близьких осіб здобувача;

здобув науковий ступінь кандидата наук більш ніж за п'ять років до моменту створення спеціалізованої вченої ради.

**Слухали:** доповідь очної аспірантки кафедри патофізіології Ковальнової Ірини Олександрівни.

Текст доповіді:

Вельмиповажний пане голово! Вельмишановні учасники семінару!

Відомо, що нітрати та фториди є потенційно небезпечними хімічними сполуками, які можуть надходити у організм людини та тварин у значно більших концентраціях, ніж гранично допустимі.

Проте саме ці речовини в найбільшій мірі викликають дискусію щодо характеру їхньої дії на кісткову тканину. З одного боку повідомляється, що нітрати та фториди здатні підвищувати кісткову масу в експерименті на тваринах та у хворих на остеопороз. З іншого боку, вони можуть порушувати метаболічні і біомеханічні властивості кісток.

Примітно, що надлишкова дія нітратів та фторидів сприяє активації транскрипційного чинника каппа В (NF-κB), що контролює біосинтез прозапальних і прооксидантних чинників, у тому числі індукцйбельної синтази оксиду азоту (iNOS). Доведеним є вплив NF-κB на процес ремоделювання кісткової тканини.

Проте у літературі відсутні дані щодо механізмів розвитку метаболічних, структурних і біофізичних змін у кістках, пов'язаних із поєднаним впливом цих сполук на організм ссавців. Перспективною є також розробка нових технологій патогенетичної терапії структурно-функціональних порушень у кістках при дії чинників навколишнього середовища, у т.ч. з використанням модуляторів транскрипційних чинників AP-1 і NF-κB, а також сучасних ентеросорбентів.

Метою цієї роботи було з'ясування механізмів метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та розробка нових



методів їхньої корекції з використанням інгібіторів транскрипційних факторів AP-1 та NF-κB, а також ентеросорбентів.

Експерименти виконані на 108 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 190-234 г. Розподіл тварин за групами експерименту наведено на слайді: 1-ша -інтактні тварини; 2-га та 3-тя - відтворення 30-денної інтоксикації нітратом і фторидом натрію натрію; 4-та - відтворення поєднаної інтоксикації цими сполуками.

У інших групах на тлі моделювання поєднаної інтоксикації фторидом і нітратом натрію, призначали такі сполуки:

- інгібітор активації транскрипційного чинника AP-1 SR 11302;
- інгібітор активації NF-κB амоній піролідиндитіокарбамат;
- водорозчинну форму кверцетину (препарат «Корвітин»);
- суспензію матеріалу на основі АУТ-М («Карболайн»);
- суспензію лігніну гідролізного (препарат «Поліфепан»;
- суспензію нанодисперсного кремнезему.

Евтаназію тварин проводили методом декапітації під ефірним наркозом.

Виділяли та скелетували стегові кістки та 3-ті поперекові хребці. Остеометрію виконували за допомогою мікрометра МК 0-25 з точністю до 0,01 мм.

Визначали біофізичні властивості цілих сухих кісток, які кількісно відображають щільність структурної композиції кісткової речовини: щільність і мінеральну насиченість. Ступінь мінералізації кісткової речовини оцінювали за показником зольності.

Дослідження біомеханічних властивостей стегової кістки проводили за 2-х, 3-х та за 4-х точковою схемами з використанням машини розривної та деформаційної установки.

Отримані дані піддавали статистичній обробці.

Поєднане введення фториду та нітрату натрію, на відміну від окремого застосування цих сполук, супроводжується підвищенням у

стегнових кістках щурів активності загальної NO-синтази та її індукцйбельної ізоформи на тлі зниження загальної аргіназної активності (та активності конститутивних ізоферментів NO-синтази з подальшим підвищенням у тканинах концентрації пероксинітритів лужних та лужно-земельних металів, що свідчить про порушення фізіологічного механізму авторегуляції рівня оксиду азоту та розвиток нітрозативного стресу.

Поєднане надлишкове введення фториду та нітрату натрію призводить до збільшення активності маркерних ферментів резорбції кісткової тканини порівняно з окремим призначенням цих токсикантів. Показники лужної фосфатази (маркеру формування кістки) істотно не змінюються.

Ці результати вказують на високий кістковий обмін з підвищеною резорбцією, яка не компенсується реакцією формування кістки.

Сукупна дія фториду та нітрату натрію супроводжується збільшенням вмісту продуктів деполімеризації колагену, протеогліканів і сіалоглікопротеїнів (вільного оксипроліну, гексуронових кислот та N-ацетилнейрамінової кислоти) у стегнових кістках та хребцях, що перевищує такий при поодинокому введенні солей фторної та нітратної кислот.

За умов поєднаного надмірного надходження у організм фториду та нітрату натрію змінюються остеометричні характеристики стегнової кістки та 3-го поперекового хребця: зменшується їхня маса при збільшенні індексу Simon, що свідчить про розвиток остеопенії.

За умов поєднаного надмірного надходження у організм фториду та нітрату натрію, на відміну від окремого застосування цих сполук, зменшується щільність та мінеральна насиченість стегнових кісток і хребців.

Призначення нітрату натрію суттєво не позначалося на величинах біомеханічних властивостей стегнової кістки.

Введення фториду натрію вірогідно підвищувало розривне навантаження за 2-х точковою схемою (лінійний розрив), але суттєво не позначалося на інших показниках біомеханічних властивостей стегнової кістки.

При поєднаному введенні фториду та нітрату натрію спостерігалось суттєве зменшення розривного навантаження при лінійному розриві та на згин, що вірогідно поступалося відповідним даним груп порівняння. За цих умов так зменшувалося відносне подовження кісток при лінійному розриві та випробовуванні на згин.

При оцінці біомеханічних властивостей стегнової кістки за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію при випробовуванні на згин за 4-х точковою схемою за допомогою деформаційної установки МРК-1 було виявлено вірогідне зменшення модулю пружності Юнга для згину порівняно з результатами інтактної групи.

Показники межі пружності та міцності, відносного видовження крайніх волокон до руйнування суттєво не змінювалися.

Інгібітори транскрипційних чинників AP-1 та NF- $\kappa$ B (SR 11302, амонію піролідидитіокарбамат та водорозчинна форма кверцетину) відновлюють за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках щурів, зменшуючи загальну активність NO-синтази та активність її індукційної ізоформи при реципрокному збільшенні загальної аргіназної активності та обмежуючи утворення пероксинітриту.

В усіх цих випадках відмічається зменшення активності в сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кістки (кислої фосфатази та її кісткової ізоформи) та зниження у стегнових кістках і хребцях концентрації вільного оксипроліну, гексуранових кислот та N-ацетилнейрамінової кислоти порівняно з групою з поєднаним введенням фториду та нітрату натрію, що

свідчить про обмеження деполімеризації колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів кісткової тканини.

Усі наведені інгібітори транскрипційних чинників AP-1 та NF- $\kappa$ B нормалізують масу стегнових кісток і хребців за умов поєднаного введення фториду та нітрату натрію, при цьому SR 11302 і амонію піролідіндитіокарбамат збільшують міцність хребців, про що свідчить зменшення остеометричного індексу Simon.

За умов експерименту SR 11302 і амонію піролідіндитіокарбамат збільшують щільність і мінеральну насиченість стегнових кісток і хребців, а водорозчинна форма кверцетину підвищує щільність стегнових кісток без істотного впливу на показники мінеральної насиченості.

Застосування SR 11302 та амонію піролідіндитіокарбамат за цих умов вірогідно підвищувало розривне навантаження та відносне подовження кісток при випробовуванні на лінійний розрив і згин.

Водорозчинна форма кверцетину збільшувала розривне навантаження, але істотно не впливала на відносне подовження кісток при випробовуванні на лінійний розрив.

При порівнянні ентеросорбентів між собою було встановлено, що суспензія нанодисперсного кремнезему найбільш ефективно зменшує вміст у крові продуктів відновлення нітратів – нітрит-іонів та запобігає зниженню фторид-індукованої аргіназної активності порівняно з препаратом на основі активованого вугілля «Карболайн» та лігніном гідролізімом.

Суспензія нанодисперсного кремнезему відновлює, за умов поєднаного введення фториду та нітрату натрію, функціонування фізіологічного механізму авторегуляції рівня NO в крові та стегнових кістках щурів. У гомогенаті кісток це призводить до зменшення загальної активності NO-синтаз, активності її індукцйбельної ізоформи, збільшення загальної аргіназної активності та обмеження утворення пероксинітриту.

Наведені зміни супроводжуються зменшенням активності в сироватці крові маркерів резорбції кістки кислої фосфатази, а також зниження у стегнових кістках і хребцях концентрації вільного оксипроліну, гексуронових кислот та N-ацетилнейрамінової кислоти порівняно з групою з поєднаним введенням фториду та нітрату натрію.

Застосування суспензії нанодисперсного кремнезему за умов надлишкового надходження фториду та нітрату натрію суттєво не позначається на кількісних показниках структурної композиції стегнових кісток, але покращує їхні остеометричні показники (збільшується їхня маса).

За цих умов підвищується щільність хребців без істотного впливу на їхню мінеральну насиченість, а за результатами остеометричного дослідження – збільшує масу та міцність (зменшується індекс Simon) 3-го поперекового хребця.

Суспензія нанодисперсного кремнезему поліпшує біомеханічні властивості стегнових кісток за умов експерименту при лінійному розриві (підвищується розривне навантаження та відносне подовження) та при випробовуванні на згин (збільшується розривне навантаження, модуль Юнга та межа міцності).

Таким чином, підбиваючи підсумки дослідження ролі механізмів метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію, можна констатувати суттєві дисрегуляторні зміни у нітроксидергічній і аргіназній системах, що призводять до порушення авторегуляції рівня монооксиду нітрогену та утворенням остеотоксичних концентрацій активних форм нітрогену. Це супроводжується порушенням циклу ремоделювання кіткової тканини за рахунок превалювання резорбції кістки, що підтверджується збільшенням активності у сироватці крові ферментів-маркерів резорбції кістки (кислої фосфатази та її тартрат-резистентної ізоформи) та надмірною деполімеризацією колагенових і неколагенових

білків стегнових кісток і хребців. Наслідком таким процесів є порушення їхніх остеометричних характеристик і структурної композиції кісток. За цих умов істотно порушуються біомеханічні властивості стегнових кісток (міцність і пружність).

У ході дослідження показано зв'язок метаболічних і біомеханічних розладів кісток за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію з активністю транскрипційних факторів AP-1 та NF-κB, що коригуються їхніми інгібіторами (SR 11302, піролідиндитіокарбаматом, кверцетином). Показана доцільність застосування суспензії нанодисперсного кремнезему за умов експерименту для попередження остеотоксичної дії надмірних концентрацій неорганічних нітросполук і фторидів.

На висновках дозвольте не зупинятися, оскільки вони роздані учасникам семінару.

Дякую за увагу!

Було задано 22 запитання на які здобувачем дані відповіді.

**В дискусії взяли участь:** професорка кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією, д.мед.н., професор Девяткіна Т.О., проректор з наукової роботи, професор кафедри внутрішньої медицини №3 з фтизіатрією, д.мед.н., професор Кайдашев І.П., завідувач кафедри гігієни, екології та охорони праці в галузі, д.мед.н., професор Катрушов О.В., завідувач кафедри гістології, цитології, ембріології, д.мед.н., професор Шепітько В.І., завідувач кафедри патофізіології, д.мед.н., професор Костенко Віталій Олександрович, завідувачка кафедри соціальної медицини, громадського здоров'я, організації та економіки охорони здоров'я з лікарсько-трудовою експертизою, д.мед.н., професор Голованова І.А.; доцентка кафедри фізіології, к.б.н., доцент Соколенко В.М, завідувач кафедри фізіології, доктор медичних наук, професор Міщенко І.В.

**1. Актуальність теми.** Впродовж останніх років триває зростання захворювання населення на остеопороз, причому часто фахівці називають це явище “безмовною епідемією”. Згідно із даними експертів ВООЗ, остеопороз займає четверте місце після серцево-судинних, онкологічних захворювань та цукрового діабету. Частота розвитку остеопорозу в різних регіонах України серед старших вікових груп складає 20-39% (жінки) та 9-23% (чоловіки). Ризик переломів мають 10,7% від загальної кількості населення України.

До об’єктивних факторів, які сприяють розвитку остеопорозу відносять зростання тривалості життя людей, дисфункцію ендокринних залоз, нераціональне харчування, наявність соматичної патології, емоційний стрес, дію гіпокінезії та мікрогравітації. В останні роки повідомляється про негативний вплив чинників навколишнього середовища на розвиток остеопорозу, зокрема, таких потужних хімічних забруднювачів як нітрати та фториди.

Показано, що за умов надлишкового надходження різних солей азотної кислоти (натрієвої, калієвої, амонієвої) значно порушуються показники хімічного складу, метаболізму та міцності кісток. Хронічна інтоксикація нітратом натрію уповільнює процес репаративної регенерації нижньої щелепи, затримує динаміку диференціювання остеобластів і клітинних елементів мікроциркуляторного русла у ділянці кісткового мозоля, що формується, порушує формування первинних кісткових балок.

У той же час, експериментальними та клінічними дослідженнями доведена здатність органічних нітратів, які використовуються як лікарські засоби в кардіології, активувати процеси утворення кістки.

Неоднозначний вплив на біомеханічні властивості кісток притаманний також сполукам фтору. Дослідження останніх років, у т.ч. багатоцентрове – FLUORIDE TREATMENT & BONE FRACTURE IN OSTEOPOROSIS PATIENTS (2012), доводять, що фториди, які деякими

науковцями рекомендувалися для лікування остеопорозу, навпаки, можуть викликати остеомаліцію та спонтанні переломи кісток.

Залишається недостатньо з'ясованим питання поєднаної дії нітратів і фторидів на кісткову тканину. Показано, що процеси її деструкції при хронічній інтоксикації нітратом натрію у значній мірі пов'язані з функціональною активністю NO-синтаз (NOS) та утворенням високотоксичного пероксинітриту. Відома здатність фторидів активувати конститутивні та індукційні NOS, пригнічувати альтернативний щодо NOS – аргіназний (неокисний) шлях метаболізму L-аргініну, з чим може бути пов'язано порушення механізму авторегуляції рівня NO в організмі (циклу оксиду азоту) з наступним розвитком окисно-нітрозативного стресу та дезорганізацією кісткової тканини.

Нещодавно показана можливість засобів, що мають сорбційні властивості (яблучний пектин), під час відтворення хронічної інтоксикації нітратом натрію обмежувати колагеноліз та деполімеризацію протеогліканів, збільшувати щільність та міцнісні властивості кісток. Проте вплив сучасних ентеросорбентів (зокрема, на основі нанодисперсного кремнезему) на кісткову тканину за умов комбінованої дії токсичних чинників не досліджувався.

Таким чином, істотне погіршення екологічної ситуації, можливість одночасної дії на організм людини та тварин двох потужних хімічних агентів (нітратів, фторидів), відсутність даних щодо механізмів розвитку морфо-функціональних, метаболічних і біофізичних змін у кістках, пов'язаних із поєднаним впливом цих сполук на організм ссавців, обґрунтовує актуальність цього експериментального дослідження. Перспективним є також розробка нових технологій патогенетичної терапії структурно-функціональних порушень у кістках при дії чинників навколишнього середовища, у т.ч. з використанням модуляторів редоксчутливих транскрипційних чинників та сучасних ентеросорбентів.



**2. Тема дисертації** на здобуття ступеня доктора філософії затверджена на засіданні Вченої ради стоматологічного факультету Української медичної стоматологічної академії (протокол № 7 від 24 лютого 2016 року та засіданні проблемної комісії «Фундаментальні дисципліни» Української медичної стоматологічної академії (протокол №4 від 24 грудня 2015 року).

**3. Зв'язок теми із державними або галузевими науковими програмами та планами робіт установи.** Дисертаційна робота є самостійною науково-дослідницькою роботою, виконаною згідно з планом наукових досліджень кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії за темою «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (державний реєстраційний № 0114U004941, термін виконання 2015–2019 р.р.). Авторка є виконавцем її окремого фрагменту.

**4. Особистий внесок здобувача у дисертації.** Особистий внесок Ковальової І.О. полягає у виборі та постановці мети, формулюванні завдань дослідження, у визначенні актуальності роботи. Дисертанткою самостійно проведено аналіз даних сучасної літератури щодо механізмів патогенної дії нітратів і фторидів на процес ремоделювання кісток ссавців. Аспірантка брала участь у відтворенні експериментальних моделей, проведенні біохімічних, остеометричних і біофізичних досліджень, провела статистичну обробку одержаних цифрових результатів, їхній аналіз, сформулювала висновки дисертаційної роботи. Частина дослідів проведено разом із співавторами статей або тез доповідей (аспірантами О.Є. Акімовим, О.В. Богдановим, Д.О. Хмільом, докторанткою А.М. Єлінською), які досліджували інші органи та системи. У працях, опублікованих у співавторстві, аспірантці належать результати власних експериментальних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних.

**5. Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій.** Дисертаційна робота Ковальової Ірини Олександрівни виконана з використанням сучасних експериментальних, біохімічних, остеометричних, біофізичних і математико-статистичних методів. В експерименті була використана достатня для отримання вірогідних результатів кількість щурів - 108 білих щурів лінії Вістар. Представлені автором положення і висновки обґрунтовані одержаними даними і є логічним наслідком результатів досліджень. Методи дослідження та експериментальні моделі є адекватними для вирішення завдань, визначених у роботі. Статистичну обробку отриманих результатів проведено в повному обсязі, їх вірогідність не викликає сумнівів.

**6. Характеристика первинної документації.** Комісія, затверджена наказом №14-н від 5 лютого 2020 року у складі Весніної Людмили Едуардівни, д.мед.н., професорки кафедри фізіології (голова комісії), Непоради Каріне Степанівни, д.мед.н., професорки, завідувачки кафедри біологічної та біоорганічної хімії, Соловйової Наталії Веніамінівни, к.мед.н, доцента, доцента кафедри патофізіології та Скрипник Валентини Павлівни, головного метролога академії, перевірила стан первинної документації та матеріалів дисертації Ковальової Ірини Олександрівни та встановила, що документи представлені в повному обсязі, оформлені необхідним чином (пронумеровані, прошнуровані, скріплені печаткою). Порушень у веденні та оформленні первинних документів не знайдено.

Цифровий матеріал у перевірених комісією документах повністю базується на фактичному матеріалі проведених дисертанткою досліджень. Достовірність результатів підтверджується протоколами статистичної обробки.

**7. Заключення комісії з питань біомедичної етики.** При роботі з тваринами аспірантка дотримувалася вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18 березня 1986 р.), Закону України «Про

захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006 р.), Етичного кодексу лікаря України та Етичного кодексу науковця України. Комісією з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії (протокол №175 від 26.09.2019 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

**8. Наукове значення роботи.** Дисертанткою вперше виявлено, що поєднане надходження до організму фторидів та нітратів, на відміну від окремого їх впливу, порушує механізм авторегуляції рівня активних форм нітрогену в кістках з подальшим розвитком нітрозативного стресу. Це супроводжується високим кістковим обміном з підвищеною резорбцією, яка не компенсується реакцією формування кістки, деполімеризацією колагенових і не колагенових білків кісткової тканини, змінами остеометричних і біомеханічних характеристик кісток (зменшується маса, щільність та мінеральна насиченість стегнових кісток і хребців, знижується міцність і пружність стегнових кісток при лінійному розриві та при випробовуванні на згин).

Вперше виявлено, що інгібітори транскрипційних чинників AP-1 та NF-κB відновлюють за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію механізм авторегуляції рівня NO в стегнових кістках щурів, зменшують активність ферментів-маркерів резорбції кістки, обмежують деполімеризацію колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів сполучної (кісткової) тканини стегнових кісток і хребців, збільшують щільність та покращують біомеханічні властивості кісток.

Авторкою показано, що ентеросорбенти у вигляді суспензії нанодисперсного кремнезему відновлює за умов поєданого введення фториду та нітрату натрію функціонування фізіологічного механізму авторегуляції рівня оксиду нітрогену в крові та стегнових кістках щурів, обмежує деполімеризацію колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів кісткової тканини, покращує остеометричні та біомеханічні характеристики кісток.

**9. Теоретичне значення.** Дисертаційна робота розв'язує важливу наукову задачу, яка полягає у з'ясуванні механізмів метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та розробці нових методів їх корекції з використанням інгібіторів транскрипційних факторів AP-1 та NF-κB, а також ентеросорбентів.

**10. Відповідність вимогам до оформлення дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 201 сторінці комп'ютерного набору, містить 32 таблиці та 15 рисунків. Складається з анотації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який містить 325 джерел – 101 кирилицею та 224 латиницею, додатків. Дисертація повністю відповідає вимогам до оформлення дисертації, затверджених Наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 №40 із змінами, внесеними Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019.

**11. Практичне значення роботи.** Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів попередження та корекції остеопенії та остеопорозу за умов сумісної дії нітратів і фторидів з використанням інгібіторів транскрипційних факторів AP-1 та NF-κB, а також ентеросорбентів (суспензії нанодисперсного кремнезему), що потребує подальших доклінічних і клінічних досліджень. Результати роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії; кафедрах патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету; Харківського національного медичного університету.

**12. Повнота опублікування результатів дисертації.** За темою дисертації опубліковано 16 друкованих праць, з яких 4 статті у фахових журналах України; 1 стаття у періодичному науковому виданні Польщі -

держави, яка входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського Союзу. Крім того опубліковано 1 статтю у фаховому виданні за кордоном (Казахстан) та 10 тез доповідей у матеріалах конгресів і конференцій.

Повнота опублікування результатів дисертації повністю відповідає п. 11 Постанови Кабінету Міністрів України № 167 «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» від 6 березня 2019 р.

**13. Апробація результатів дисертації.** Основні наукові положення і результати дисертації доповідалися та обговорювалися на XIX міжнародній медико-біологічній конференції молодих дослідників «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 23 квітня 2016 р.), VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 5–7 жовтня 2016 р.), X науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.), V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Багаторівнева профілактика та діагностика в онкології», присвяченій 95-річчю з дня заснування Харківської медичної академії післядипломної освіти (Харків, 1-2 лютого 2018 р.), XVII читаннях ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 24–25 травня 2018 р.), XI науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 4–5 жовтня 2018 р.), VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики», присвячені 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора М.Н. Зайка (Полтава, 10-12 жовтня 2018 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та

фактори розвитку» (Львів, 25–26 січня 2019 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.» (Львів, 25-26 травня 2019 р.), II науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019 р.).

#### **14. Особистий внесок здобувача до наукових праць.**

*Публікації, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Функціонування аргіназного та NO-синтазного шляху метаболізму L-аргініну в крові щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та застосування суспензії нанодисперсного кремнезему / О.Є. Акімов, І.О. Ковальова, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2016. – Т.16, №1. – С. 169-173. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо NO-синтазної та аргіназної активності в крові щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та застосування суспензії нанодисперсного кремнезему)*

2. Влияние энтеросорбентов на метаболизм аргинина и процессы пероксидного окисления липидов в крови крыс в условиях хронической сочетанной интоксикации нитратом и фторидом натрия / О.Е. Акимов, И.А. Ковалёва, В.А.Костенко // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей (Казахстан). – 2016. – №3. – С.37-41. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо NO-синтазної та аргіназної активності в крові щурів за умов застосування різних ентеросорбентів при поєднаній інтоксикації нітратом і фторидом натрію).*

3. Ковальова І.О. Вплив інгібіторів транскрипційного чинника каппа В на метаболічні та структурні порушення кісткової тканини за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію / І.О.

Ковальова, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2019. – Т.19, №1. – С. 65-70. *(Особиста участь дисертантки – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).*

4. Ковальова І.О. Вплив інгібітора транскрипційного чинника AP-1 на структурно-метаболичні та біомеханічні зміни кісткової тканини за умов поєданого надлишкового надходження фториду та нітрату натрію / І.О. Ковальова, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2019. – Т.19, №2. – С. 123-128. *(Особиста участь дисертантки – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).*

5. Akimov O. Ye. Correction of destructive changes in connective tissues of different organs during chronic nitrate and fluoride intoxication by nanosized silica oxide / O.Ye. Akimov, I.O. Kovalova, V.O. Kostenko // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – V.9, №5. – P. 547-555. *(Безпосередньо дисертанкою одержано та проаналізовано результати щодо змін показників деструкції кісткової тканини за умов застосування суспензії нанодисперсного кремнезему при поєднаній інтоксикації нітратом і фторидом натрію).*

*Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

6. Ковалёва И.А. Роль пероксинитрита в процессах деполимеризации коллагена и протеогликанов в костях и коже крыс при сочетанном введении в организм нитрата и фторида натрия / И.А. Ковалёва, А.В. Богданов, Д.А. Хмиль // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье : XIX международная медико-биологическая конференция молодых исследователей (Санкт-Петербург, 23 апреля 2016 г.) : тезисы. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2016. – С. 273-274. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо закономірностей зміни концентрації*

*пероксинітриту та продуктів деполімеризації колагену і протеогліканів у кістках за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

7. Роль редокс-чутливих транскрипційних чинників у механізмах окисно-нітрозативного стресу / А.М. Єлінська, Ю.Д. Френкель, М.С. Коваль, І.О. Ковальова, О.О. Швайковська, І.В. Явтушенко, В.О. Костенко // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : Х наук.-практ. конф. з міжнарод. участю (Тернопіль, 5–6 жовтня 2017 р.) : мат. – Тернопіль, 2017. – С. 16. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо ролі транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 у механізмах окисно-нітрозативного стресу в кістках за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

8. Роль інгібіторів та індукторів редокс-чутливих транскрипційних чинників у фармакологічній регуляції окисно-нітративного стресу / А.М. Єлінська, Ю.Д. Френкель, О.І. Белікова, М.С. Коваль, І.О. Ковальова, В.О. Костенко // V нац. з'їзд фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р.) : тези доп. – Запоріжжя, 2017. – С. 42. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо впливу інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на розвиток окисно-нітрозативного стресу в кістках за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

9. Акимов О. Е. Нитрат-индуцированные процессы в крови и сердце крыс / О.Е. Акимов, И.А. Ковалёва // Багаторівнева профілактика та діагностика в онкології : зб. тез наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – Харків, 2018. – С. 8. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо змін показників системи NO в крові щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

10. Інгібітори активації транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 як засоби профілактики та патогенетичної терапії окисно-нітрозативного стресу / В.О. Костенко, А.М. Єлінська, І.О. Ковальова, С.М. Назаренко, Н.В. Соловійова, Ю.Д. Френкель, О.О. Швайковська, І.В. Явтушенко //



Бюлл. XVII чтений им. В.В. Подвысоцкого (г. Одесса, 24–25 мая 2018 г.). – Одесса, 2018. – С. 110-111. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо впливу інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на розвиток окисно-нітрозативного стресу в кістках за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

11. Роль редокс-чутливих чинників транскрипції в механізмах деструкції сполучної тканини / А.М. Єлінська, І.О. Ковальова, С.М. Назаренко, Ю.Д. Френкель, О.О. Швайковська, І.В. Явтушенко, В.О. Костенко // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : XI наук.-практ. конф. з міжнарод. участю (Тернопіль, 4–5 жовтня 2018 р.) : мат. – Тернопіль, 2018. – С. 43- 44. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо впливу інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1 на показники деструкції кісткової тканини за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

12. Роль редокс-чутливих чинників транскрипції в порушенні авторегуляції оксиду азоту в організмі ссавців / В.О. Костенко, Ю.М. Гришко, С.В. Денисенко, А.М. Єлінська, І.О. Ковальова, Н.В. Соловійова, О.О. Швайковська // Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики : VII пленум Укр. наук. тов. патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячені 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка : мат. доп. (Полтава, 11-12 жовтня 2018 р.). – Полтава, 2018. – С. 35-36. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо розладів авторегуляції рівня NO в кістках щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію).*

13. Роль активации ядерного транскрипционного фактора NF-κB в развитии гиперпродукции оксида азота в условиях хронической фторидной интоксикации / О.Е. Акимов, И.А. Ковалёва, А.В. Мищенко // Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку : збірник тез наукових

робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції (м. Львів, 25–26 січня 2019 р.). – Львів : ГО «Львівська медична спільнота», 2019. – С. 109–112. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо ролі активації NF-κB на вироблення NO у кістках щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію).*

14. Влияние NF-κB фактора на развитие оксидационного стресса в крови крыс при фторидной интоксикации / О.Е. Акимов, И.А. Ковалёва, А.В. Мищенко // Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст. : міжнар. наук.-практ. конф. (Львів, 25–26 травня 2019 р.) : зб. матеріалів. – Львів, 2019. – С. 94–98. *(Безпосередньо дисертантці належать дані щодо ролі активації NF-κB на продукування активних форм нітрогену в кістках щурів за умов інтоксикації фторидом натрію).*

15. Ковальова І.О. Метаболічні, остеометричні і біомеханічні показники кісткової тканини щурів при поєднаному надлишковому надходженні в організм нітрату і фториду натрію / І.О. Ковальова, В.І. Макаренко // Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція : тези доповідей II Науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю (21 листопада 2019 р.). – Харків : Вид-во НФаУ, 2019. – С. 184. *(Особиста участь дисертантки – аналіз літературних даних, організація та проведення досліджень, інтерпретація результатів, написання тез доповіді).*

*Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

16. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців / В.О. Костенко, О.Є. Акімов, І.О. Ковальова, А.В. Міщенко, Ю.Д. Френкель // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2018. – Т. 18, №1. – С. 303–308. *(Безпосередньо дисертанткою проаналізовано дані літератури та власних досліджень щодо закономірностей впливу фторидів на кісткову тканину).*

**15. Відповідність змісту дисертації спеціальності, з якої вона подається до захисту.** Дисертаційна робота Ковальнової Ірини Олександрівни відповідає спеціальності 222 – Медицина.

**16. Характеристика здобувача, його творчий шлях у науці, ступінь його наукової зрілості тощо.** Ковальова Ірина Олександрівна, 1980 року народження, освіта вища, у 2004 році закінчила медичний факультет Української медичної стоматологічної академії за спеціальністю “Лікувальна справа”.

З 2004 по 2006 р. – навчалася в інтернатурі зі спеціальності «Акушерство та гінекологія».

З 2006 до 2007 – працювала лікарем-гінекологом у жіночій консультації при поліклінічному відділенні міської клінічної лікарні №4 м. Полтави, з 2007 до 2012 року – лікарем загального профілю в МСЧ АО «Нафтоавтоматика», з 2012 до 2015 р. – лікарем-косметологом у приватному закладі «Шалена краса».

З 2015 р. працює викладачем кафедри патофізіології Української медичної стоматологічної академії.

З вересня 2016 р. навчається у очній (вечірній) аспірантурі цієї кафедри.

За період навчання у аспірантурі Ковальова І.О. набула теоретичні знання, уміння, навички та відповідні компетентності, передбачені освітньо-науковою програмою підготовки докторів філософії в Українській медичній стоматологічній академії зі спеціальності 222 – Медицина, оволоділа необхідними для здобувача освіти рівня доктора філософії компетентностями, технікою лабораторних досліджень, методами планування, організації та проведення експериментів на тваринах, узагальнення та аналізу одержаних результатів, підготовки оглядових та оригінальних публікацій, оформлення дисертаційної роботи.

Постійно поглиблює свої знання з патофізіології та суміжних дисциплін. У своїй роботі дотримується принципів біомедичної етики та

академічної доброчесності. Користується авторитетом у співробітників кафедри та студентів.

**17. Результати перевірки на наявність неправомірних запозичень.** Українська медична стоматологічна академія має внутрішню систему перевірки академічних текстів на наявність запозичень. Академічні тексти перевіряються на основі Положення «Про порядок перевірки в Українській медичній стоматологічній академії текстових документів – магістерських, кандидатських і докторських дисертаційних робіт, звітів за науково-дослідними роботами, наукових публікацій, навчальної літератури, навчально-методичних видань та засобів навчання на наявність плагіату», що базується на чинному законодавстві України.

Публікації та дисертаційна робота Ковальної Ірини Олександрівни «Механізми метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція» не містять виявлених текстових та інших запозичень.

### **ПОСТАНОВИЛИ:**

На основі представленої дисертаційної роботи, прилюдного її обговорення, відповідей на запитання та відгуків офіційних рецензентів учасники фахового семінару при Українській медичній стоматологічній академії вважають, що дисертаційна робота аспірантки Ковальної Ірини Олександрівни на тему «Механізми метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та їх корекція» є закінченим науковим дослідженням, що розв'язує наукову задачу, яка полягає у з'ясуванні механізмів метаболічних і біомеханічних порушень у кістках щурів за умов поєднаного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію та розробці нових методів їх корекції з використанням інгібіторів транскрипційних факторів AP-1 та NF- $\kappa$ B, а також ентеросорбентів. Робота відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про

проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» від 6 березня 2019 р. № 167 та може бути представлена до офіційного захисту за спеціальністю 222 – Медицина.

Висновок прийнято одноголосно.

Голова фахового семінару,  
д.мед.наук, професор



I.V. Міщенко

Секретар фахового семінару,  
к.б.н., доцент



V.M. Соколенко

**Рецензенти:**

д.мед.наук, професор



L.E. Весніна

д.мед.наук, професор



I.I. Старченко