

Відзив офіційного опонента

14 БЕР 2019

Вх. №

83/03-07 Кларк

на дисертаційну роботу Лісаковської Ольги Олександровни «РОЛЬ ВІТАМІНУ D₃ У РЕГУЛЮВАННІ NF-κB-АСОЦІЙОВАНИХ СИГНАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ЗА ПРЕДНІЗОЛОН-ІНДУКОВАНОГО ОСТЕОПОРОЗУ», поданої до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Дисертація присвячена вивченю внутрішньоклітинних механізмів, які забезпечують остеогенез в організмі, їх змінам на тлі глюкокортикоїд (ГК)-індукованого остеопорозу і розглядають введення вітаміну D, як можливий шлях корекції вказаного стану.

Тема роботи є **актуальною**, тому що глюкокортикоїди, завдяки їх протизапальної дії, використовуються дуже часто і в більшості неконтрольовано. Важко перерахувати захворювання при яких призначаються ГК для лікування. Це практично усі стани небактеріального запалення, як гострі так і хронічні: астма, легеневі обструкції, ревматоїдні, шлунково-кишкові захворювання, тиреоїдити, шкірні та очні запалення тощо. При цьому хронічне захворювання потребує довгого лікувального курсу. Преднізолон, дексаметазон і будесонід і т.п. застосовують для пригнічення імунної відповіді, при аутоімунних станах, в тому числі у пацієнтів після трансплантації органів. Okрім протизапальних властивостей, ГК мають також антироліферативні та антиангіогенні ефекти, а тому часто курс ГК супроводжує лікування онкопатологій.

Таким чином, 3-5% населення регулярно отримують ГК, а з віком їх вживання значно зростає. Одним із найбільш деструктивних побічних ефектів довготривалої глюкокортикоїдної терапії є ГК-індукований остеопороз. Відомо, що піврічний прийом ГК у кожного третього пацієнта викликає остеопороз із незворотною втратою маси кісткової тканини.

В ході роботи автор на тваринній моделі вивчала ефекти, індуковані введенням ГК. Так, за тривалого введення преднізолону були вивчені: стан D-авто/паракринної системи у тканинах щурів, вміст глюкокортикоїдних рецепторів у кістковому мозку та печінці, стан мінерального обміну, міцність кістки. Дослідник виявила, що вказані порушення були пов'язані із недостатньою забезпеченістю організму щурів вітаміном D, тому показники щурів із ГК-

індукованим остеопорозом порівнювалися із аналогічними у моделі, на якої використовували корекцію у вигляді введення тваринам холекальциферолу.

Відомо, що хронічна ГК терапія може викликати зниження забезпеченості організму вітаміном D і холекальциферол використовується у лікуванні ГК індукованого остеопорозу завдяки його впливу на кісткову тканину, але механізми розвитку ГК-індукованого остеопророзу на клітинному і молекулярному рівнях є недостатньо з'ясованими, що перешкоджає ефективному пошуку препаратів для профілактики та лікування даного захворювання.

Головною сполучною ланкою між імунною та кістковою системами вважається цитокінова система RANKL/RANK/OPG. Автор роботи визначає, що незважаючи на великий масив експериментальних даних, молекулярні механізми остеоімунної взаємодії та можлива роль її порушення у патогенезі остеопорозу недостатньо висвітлені.

Тому, дисертант привернула свою увагу до механізмів регуляції остеопорозу і вивчила стан цитокінової системи RANKL/RANK/OPG у кістковому мозку, кістковій тканині, у печінці щурів за тривалої дії преднізолону. Значна увага в роботі приділена особливості фосфорилювання транскрипційного фактора NF-кВ як регулятора RANK-, VDR- та GR-опосередкованих сигнальних шляхів, оскільки NF-кВ є центральною ланкою у реалізації функцій цитокінових систем до яких він залучений.

Дослідником визначена певна дисфункція вказаних систем регуляції за умов моделі із тривалим введенням ГК, а спроба корекції стану введенням препарату вітаміну D продемонструвала можливість модулювання активності NF-кВ, і впевнено довела, що введення вітаміну D має коригувальний ефект на індуковані преднізолоном порушення.

Хочу підкреслити бездоганну, з моєї точки зору, методичну та методологічну сторону роботи. Дослідниця використала сучасні, кількісні методи. Модель створена адекватно, тварини та препарати обрані обґрунтовано. Отриманими даними авторка різnobічно продемонструвала ефекти, які справляє на організм тварини тривала дія ГК. Чітко визначені усі молекулярні ланки регуляторної системи остеогенезу та яскраво продемонстровані ефекти корекції і точки їх дії.

Дисертація оформлена згідно вимогам. Огляд літератури побудований на цитуванні сучасних джерел, читається легко і надає можливість читачу ознайомитися із проблемою дослідження.

Опис експериментальної частини дисертації чітко структурований. Всі ілюстрації та діаграми зрозумілі, прописані та позначені відповідно вимогам. Для поглибленого обговорення автор використовує додатки, в яких приводить яскраві регуляторні схеми. Особливе позитивне враження на мене справило обговорення результатів, в якому автор підсумувала усі отримані дані і навела їх у вигляді лаконічного обговорення. Висновки відповідають завданням.

Таким чином, отримані дані впевнено доводять новий погляд щодо механізмів порушення функціонування цитокінової системи RANKL/RANK/OPG за глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу та ефективного коригувального впливу вітаміну D. Завдяки виявленій здатності вітаміну D модулювати стан сигнального шляху RANKL/RANK/OPG та системи NF-кВ/ІкВ обґрунтована доцільність використання холекальциферолу з метою коригування перебігу процесів остеосинтезу та резорбції кісткової тканини за тривалої терапії глюкокортикоїдами.

І це суттєвий вклад даного наукового дослідження в практичну біологію та медицину.

В той же час, при читанні рукопису, в мене виникло декілька питання до авторського стилю викладення ряду отриманих результатів. На мій погляд, такий стиль є не зовсім вдалий.

По-перше, в назві дисертації автор підкреслює, що робота буде визначати роль вітаміну D у регулюванні NF-кВ -асоційованих сигнальних шляхів, а метою роботи автор ставить - дослідити роль NF-кВ-асоційованого регуляторного сигнального шляху RANKL/RANK/OPG у механізмах розвитку порушень ремоделювання кісткової тканини. І тут не зовсім ясно роль чого ж буде розглянута: вітаміну D чи регуляторного сигнального шляху?

Мені важко погодитися взагалі із постановкою питання (в меті роботи) про те, що, *регуляторний сигнальний шлях* може грати роль в **порушенні**. Регуляторний сигнальний шлях – це природна система регуляції, одна з існуючих в системі гомеостазу. Її роль - це баланс системи (в даному випадку) системи остеогенезу – вона не може бути причиною порушення або грати в цьому роль.

Може було б краще: Визначити зміни регуляторного сигнального шляху при порушенні..., або вивчити вплив експериментального глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу на регуляторний сигнальний шлях.

До речі, автор ставить одне із завдань «охарактеризувати **стан системи NF-кВ/ІкВ** та дослідити її роль у взаємодії RANK-, VDR- та GR-сигналювання у тканинах щурів за ГК-індукованого остеопорозу та при дії вітаміну D3». Це вірно і зрозуміло.

В іншому завданні, автор планує «*Визначити рівень забезпеченості організму піддослідних тварин вітаміном D за вмістом 25OHD у сироватці крові та за вмістом VDR та CYP27B1 у кістковому мозку, кістковій тканині та тканині печінки охарактеризувати стан вітамін D-ауто/паракринної системи за експериментального остеопорозу*». Хоча для науковця, який шукає новизну, вимірювання показників – це шлях (підхід, «інструмент»), а завдання краще було б поставити, як :«**Охарактеризувати стан вітамін D-ауто/паракринної системи та забезпеченості організму піддослідних тварин вітаміном D за експериментального остеопорозу шляхом визначення рівню 25OHD у сироватці крові та VDR та CYP27B1 у кістковому мозку, кістковій тканині та тканині печінки**

Головні досягнення наводяться в **Науковій новизні одержаних результатів**. І знову ж, на мій погляд невдало : «У роботі вперше було показано залежність між дефіцитом вітаміну D в організмі та порушеннями NFкВ-асоційованих сигнальних шляхів у різних тканинах щурів за ГКіндукованого остеопорозу».

Але ж моделювали не дефіцит вітамину D, а ГКіндукований остеопороз, тому краще було б визначити, що в роботі вперше **визначений стан NFкВ-асоційованих сигнальних шляхів** за ГКіндукованого остеопорозу (та при дефіциті вітаміну D). Саме це, є головним досягненням і новизною роботи.

Також, автором «встановлено, що на тлі зниження вмісту VDR спостерігаються ГК-індуковані тканинноспецифічні порушення синтезу CYP27B1». Але чи є першим в патогенезі зниження вмісту receptorів? Автором встановлено, що саме введення преднізолону індукує тканинноспецифічне зниження вмісту VDR і порушення синтезу CYP27B1.

Мені важко погодитися із висловлюванням: «Вперше продемонстровано участь цитокінової системи RANKL/RANK/OPG у проявах ГК-індукованої гепатотоксичності». Вважаю, треба було б написати «Вперше продемонстровано дисбаланс участь цитокінової системи RANKL/RANK/OPG як один із шляхів виникнення (формування) у проявах ГК-індукованої гепатотоксичності».

Дивним є те, що в багатьох випадках автор чітко і зрозуміло формує свої думки та описує отримані результати, але вказані невдалі моменти зустрічаються

в роботі, вимушують замислюватися щодо причинно-наслідкових зв'язків і погіршують сприйняття матеріалу.

Враховуючи, що дисертаційна робота є творчою працею, автор має право висловлювати свої думки на свій розсуд. Тому, я не вважаю ці зауваження принциповими. Вони скоріше можуть сприйматися як погляд з боку і побажання на більш вдале висловлювання.

Тому дисертаційна робота Лісаковської Ольги Олександровни «Роль вітаміну D₃ у регулюванні NFκB -асоційованих сигнальних шляхів за преднізолон-індукованого остеопорозу», за свою актуальністю, методичним рівнем, обсягом виконаних досліджень, новизною отриманих даних, висновкам **відповідає** п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затверженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року зі змінами, внесеними згідно постанови Кабінету Міністрів України № 656 від 10.08.2015 року та №1159 від 30.12.2015 року, щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, **а автор заслуговує** на присудження її наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент

Директор Науково-дослідного інституту
експериментальної та клінічної медицини
Національного медичного університету
імені О.О.Богомольця, д.мед.н., професор

Л.В.Натрус

