

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Сметанюка Олексія Васильовича “Вікові аспекти структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах”, представлену до захисту у разову спеціалізовану вчену раду Буковинського державного медичного університету ДФ 76.600.035, що утворена згідно наказу в.о. ректора ЗВО Буковинського державного медичного університету №32/Д від 13.05.2022 р. на підставі рішення Вченої ради БДМУ № 9 від 28 квітня 2022 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Актуальність теми дисертації. Одним з основних проявів життя є чітка скоординованість процесів, підпорядкованих власному біологічному ритму. Ця система знаходиться як під впливом змін ендогенного характеру, так і в навколишньому середовищі. Саме здатність адекватно відповідати на різні екзогенні та ендогенні чинники шляхом перебудови хроноритмів характеризує стабільність живого організму.

Тривалість фотоперіоду залишається однією з найбільш консервативних та сталих складових хроноритмічної діяльності. Періодична зміна дня і ночі забезпечує формування біологічних ритмів у всіх живих системах.

Універсальним регулятором біологічних ритмів є мелатонін – еволюційно давня молекула, яка виявляється у всіх хребетних, багатьох безхребетних тварин і навіть у деяких рослин та одноклітинних еукаріотів. Щодо ссавців, основна частка хронобіотика секретується в шишкоподібній залозі (епіфізі мозку) та чітко підпорядкована фотоперіоду. Тісно пов'язана з надперехресними (НПЯ), пришлуночковими (ПШЯ) та надзоровими (НЯ) ядрами гіпоталамуса, шишкоподібна залоза бере участь у спряженні з фотоперіодизмом циркадіанних ритмів. Тривале освітлення в науковій

літературі кваліфікують як «світловий стрес». У свою чергу, в нейроендокринній регуляції стрес-реакції провідна роль належить великоклітинним ядрам гіпоталамуса – надзоровим, а також пришлуночковим, різні суб'ядра яких (задньобічні великоклітинні та присередні дрібноклітинні) продукують основні компоненти системи стрес-реалізації – кортиколіберин та вазопресин.

Той факт, що регуляція нічного синтезу епіфізарного мелатоніну і пригнічення даного процесу при підвищенні освітленості реалізується за участі надзорових і пришлуночкових ядер, а також наявність мелатонін-рецепторів у даних ядрах, свідчить про існування системи прямих і обернених зв'язків між цими ядрами та епіфізом мозку. Однак даних щодо реакції рецепторів мелатоніну в нейронах вказаних ядер на порушення світлових режимів практично відсутні.

Визначення впливу на організм особливого стресового чинника, – світлового стресора, дозволило Сметанюку Олексію Васильовичу не тільки доповнити відомі факти, але і по-новому підійти до їх інтерпритації: встановити у віковому аспекті закономірності хроноритмічної організації великоклітинних (надзорових та пришлуночкових) ядер гіпоталамуса залежно від модифікацій фотоперіоду, що є необхідним для пізнання центральних механізмів циркадіанних ритмів головного мозку щурів. Такий підхід до виконання наукового дослідження є свідченням його актуальності.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача. Текст дисертації викладений на високому рівні наукового письма і в логічному порядку. У дослідженні проставлені зрозумілі цілі і задачі, які спрямовані на визначення структурно-функціональних перебудов надзорових та пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів при стресогенних впливах, а також ролі мелатоніну в механізмах корекції виявлених відхилень.

Для кожної із задач було реалізовано адекватні дизайни досліджень, підбір експериментальних груп тварин, процес збору і аналізу експериментальних даних. Отримані результати оформлені у зрозумілий

спосіб з вказанням статистичних методів обробки, статистичних достовірностей та проведено синтез даних. З результатів дослідження впливає декілька гіпотез, які можуть бути задачами для продовження досліджень в даному полі.

Кожен з розділів власних досліджень підкріплений публікаціями Олексія Васильовича. Всього опубліковано 19 наукових праць у рецензованих журналах високого рівня, також результати представлені і продискутовані на українських і міжнародних конференціях, наукових школах і з'їздах.

Таким чином, рівень викладення основного змісту дисертації в опублікованих працях, у т.ч. у наукових фахових виданнях, об'єктивно віддзеркалює головні наукові положення та відповідає високим критеріям ступеня доктора філософії.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях. На основі теоретичного підходу та експериментального дослідження отримані дані вперше розкривають нові, невідомі раніше, вікові закономірності морфо-функціональних змін задньобічних великоклітинних і присередніх дрібноклітинних суб'єдер пришлуночкового ядра та надзорового ядра гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості світлового періоду. Вперше встановлено більш виражені добові закономірності перебудов морфо-функціональних параметрів нейросекреторних клітин надзорних ядер гіпоталамуса, ніж у субпопуляціях нейронів пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів.

Уперше на підставі проведених ультраструктурних досліджень у щурів за умов світлової стимуляції виявлені деструктивні порушення в нейроцитах надзорних ядер гіпоталамуса старих щурів, зниження їх функціональної активності у досліджувані періоди доби, ніж при світловій депривації.

На основі комплексного вивчення характеру щільності мелатонін-рецепторів у нейронах надзорних ядер гіпоталамуса старих щурів впродовж

доби отримано переконливі докази фото-індукованого порушення циркадіанного ритму функціонування мелатонін-рецепторів у досліджуваних нейросекреторних клітинах.

Доведена закономірність, згідно з якою введення екзогенного мелатоніну (1,0 мг/кг) старим щурам сприяє зростанню резистентності ультраструктур до світлового стресора, покращанню показників площі компонентів нейронів прищлуночкових ядер та концентрації у них РНК, тенденції до нормалізації морфометричних показників компонентів нейронів прищлуночкових і надзорових ядер гіпоталамуса тварин.

4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Положення дисертаційної роботи ґрунтуються на результатах експериментів, в яких використано 178 старих нелінійних самців білих щурів, що достатньо для обґрунтування результатів та підтвердження їх вірогідності. Формування експериментальних груп, відбір тварин за статтю, умови утримання тварин ретельно обґрунтовані, відповідають поставленій меті та завданням дослідження і повністю дозволяють їх реалізувати. У процесі роботи Сметанюком Олексієм Васильовичем використано адекватні методи дослідження - імуногістохімічні, морфометричні, денситометричні, гістологічні, електронно-мікроскопічні та статистичні, вони відповідають меті і завданням. Цифрові дані оброблені методом варіаційної статистики, що дозволяє вважати виконані дослідження достовірними. Достовірність первинних матеріалів дисертації засвідчена висновком експертної комісії.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності. Сметанюк О.В. показав високий рівень наукового підходу до поставлених задач, глибоке розуміння проблематики, спроможність самостійно планувати та вирішувати наукові задачі.

На основі даних проведеного дослідження Сметанюком О.В. написано та опубліковано наукові статті у рецензованих журналах, а також захищено і

презентовано результати на профільних наукових заходах. На основі вищевикладеного вважаю, що Сметанюк О.В. оволодів методикою наукової діяльності в об'ємі достатньому для ступеня доктора філософії і є самостійним дослідником.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Буковинського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та генетики “Морфофункціональне і біохімічне обґрунтування дисфункцій нейросекреторних структур головного мозку й ендокринних залоз та гепаторенальної системи щурів при експериментальній патології, у віковому аспекті та шляхи її корекції” (шифр теми: 0119U101346 – фундаментальна). Автор є співвиконавцем теми та виконавцем фрагменту, присвяченому з'ясуванню вікових аспектів структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах.

У науковій роботі представлено розв'язання та науково-теоретичний аналіз задачі, яка полягає у встановленні морфологічного підґрунтя закономірностей вікової хроноритмічної організації вищого центру координації вегетативних функцій – пришлуночкових і надзорових ядер гіпоталамуса залежно від модифікацій фотоперіоду, що є необхідним для пізнання центральних механізмів циркадіанних ритмів головного мозку старих щурів.

Оригінальними в даній роботі є нові фундаментальні відомості про структурні перетворення периферичних компонентів системи, яка регулює добові ритми та адаптацію при впливі світла, що може бути морфологічним підґрунтям для розробки нових підходів і принципів профілактики та лікування десинхронозу, пов'язаного з цілодобовим освітленням. Одержані результати доцільно враховувати у науково-педагогічному процесі на кафедрах анатомії людини, патологічної фізіології, гістології, цитології.

Практична значимість даного дослідження полягає в доповненні

існуючих теорій про механізми хрононейроендокринної інтеграції у формуванні циркадіанних ритмів, і зокрема участь у них нейроендокринних трансдукторів – задньобічних великоклітинних і присередніх дрібноклітинних суб'ядер прищлуночкових ядер, а також нейросекреторних клітин надзорних ядер гіпоталамуса.

Науково обгрунтовано доцільність застосування мелатоніну для корекції морфофункціональних та імуногістохімічних порушень субпопуляцій досліджуваних нейронів гіпоталамуса старих щурів при світловому стресі.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому. Дисертація Сметанюка Олексія Васильовича викладена українською мовою на 241 сторінці і складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, загальної методики і матеріалів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, бібліографії та додатків.

Позитивним є те, що список цитувань за матеріалами дисертації містить лише посилання на конкретні публікації і не переобтяжений посиланнями на джерела, які безпосередньо не торкаються теми дисертаційної роботи. Бібліографічний покажчик містить 311 джерел (із них: 117 – кирилицею; 194 – латиницею), оформлений згідно з чинними стандартами.

Дисертаційна робота має достатню кількість ілюстрованого матеріалу для пояснення і візуалізації отриманих результатів.

Анотація складається зі стислого переказу основних пунктів дисертаційного дослідження.

У вступі на 9 сторінках здобувач обгрунтував актуальність проведеного дослідження, чітко сформулював мету та 6 завдань дослідження, визначив об'єкт та предмет дослідження, аргументовано вказав методи дослідження, показав наукову новизну і практичне значення одержаних результатів, зазначив свій особистий внесок, описав географію наукових форумів з апробацією результатів виконаної наукової роботи.

Розділ 1 – «Біоритмічна організація функцій організму в нормі та під дією стресових чинників (огляд літератури)» – це огляд літературних джерел, що торкаються різних сторін виконаної дисертаційної роботи. Дисертант вміло обґрунтовує участь у реагуванні на світловий стрес ендокринної системи, ядер гіпоталамуса. Сметанюк О.В. не тільки констатує ту чи іншу позицію авторів, але вступає в полеміку, обґрунтовано викладає вузькі місця і неузгодженість низки положень. Цей розділ, який містить три підрозділи, описаний на 28 друкованих сторінках. Кожен з підрозділів має узагальнююче завершення наведеної інформації. Посилання на літературні джерела переважно відносяться до останнього десятиріччя.

Одним із важливих у дисертації є розділ 2 – Матеріал і методи дослідження, оскільки дає загальне уявлення не тільки про достатню кількість досліджень для наукових висновків, а й про методичний рівень роботи в цілому. Розділ викладений на 10 друкованих сторінках та поділений на 8 підрозділів, документований 1 таблицею а 2 рисунками. Дослідження проведені на 178 старих нелінійних самцях білих щурів віком 24-30 міс. Дисертантом використані традиційні та сучасні морфологічні й математикостатистичні методи, зокрема: морфометричний, гістологічний, ультромікроскопічний, імуногістохімічний, статистичний. Необхідно підкреслити, що в опублікованих у співавторстві з науковим керівником та колегами роботах, дисертанту належать основні ідеї та розробки стосовно вивчення особливостей теми, а також у повному обсязі висвітлені власні результати дослідження.

Основна частина дисертаційного дослідження викладена у 3, 4, 5, 6 розділах.

Розділ 3 “Гістологічна та морфометрична характеристика стану нейронів присередніх дрібноклітинних суб’ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості фотоперіоду та експериментальної терапії” (34 стор.) – описана добова ритмічність присередніх дрібноклітинних суб’ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса

зі зниженням у нічний період доби. Хоча тривале освітлення є значним стресором і пусковим чинником розвитку десинхронозу, у даному випадку це мало торкається досліджуваних суб'ядер нейросекреторних клітин гіпоталамуса. Практично відсутність ознак підсилення функціональної активності структур пришлуночкового ядра та вірогідних різниць площі нейронів і його компонентів при постійному та стандартному режимі освітлення дозволяє дійти висновку про широкий діапазон пластичності присередніх дрібноклітинних суб'ядер пришлуночкового ядра гіпоталамуса при 7-добовій експозиції яскравим світлом та визначальний вплив на їх діяльність світлового подразника. Ін'єкції мелатоніну на тлі постійного освітлення істотно не вплинули на добовий ритм морфо-функціональної активності нейроендокринних трансдукторів пришлуночкового ядра гіпоталамуса, який залишався схожим до такого в інтактної групи старих щурів та тварин із зниженою функціональною активністю.

У розділі 4 “Вплив різної тривалості фотоперіоду на морфо- та денситометричний аналіз нейронів задньобічних великоклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер переднього гіпоталамуса старих щурів” (33 стор.) на основі проведеного етапу досліджень автор зазначає про згладжуваність різниці між денними та нічними показниками при вивченні добових коливань та функціональної активності нейронів задньобічних великоклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів, які перебували за гіпофункції шишкоподібної залози. І хоча при тривалому освітленні вдень вірогідних різниць щодо показників інтактних тварин не виявлено, уночі площа компонентів досліджуваних суб'ядер нейросекреторних клітин гіпоталамуса вірогідно зростає. Це дозволило автору дійти висновку, що за тривалого світлового стресу розвивається десинхроноз з проявами реактивних змін морфометричних параметрів задньобічних великоклітинних суб'ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса щурів.

Застосування мелатоніну на фоні постійного освітлення нормалізувало порушення циркадіанного ритму морфо-функціональної активності

нейротрансдукторів пришлуночкових ядер гіпоталамуса, спричинене світловим стресом.

Дані, викладені у розділі 5 “Морфометрична характеристика нейронів надзорових ядер гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості фотоперіоду, впливу стресу та експериментальної терапії” (на 32 стор.), логічно підсумовують, що тривалість фотоперіоду істотніше впливає на морфометричну та денситометричну структуру нейронів надзорових ядер, ніж суб’ядер пришлуночкових ядер гіпоталамуса старих щурів. Постійний світловий режим десинхронізує морфо-функціональну активність нейронів надзорових ядер гіпоталамуса, змінює концентрацію РНК в їх ядрі, ядерці та цитоплазмі. Водночас, введення екзогенного мелатоніну у дозі 1,0 мг/кг маси тіла тварини старим тваринам, що перебували за умов тривалого освітлення впродовж семи діб призвело до відносного покращання ультрацитоархітектонічного стану нейронів надзорових ядер гіпоталамуса старих тварин, свідченням чому є поява нейросекреторних гранул. Однак ультраструктура інших органел досліджуваного нейрона вказує на напружений стан, зумовлений тривалою світловою експозицією.

У розділі 6 “Імуногістохімічний аналіз щільності мелатонінових рецепторів у надзоровому ядрі гіпоталамуса старих щурів за модифікацій фотоперіоду та введення мелатоніну” (10 стор.) здобувач відзначає, що оптична густина специфічного забарвлення мелатонін-рецепторів 1А у нейронах надзорових ядер гіпоталамуса старих щурів підпорядкована циркадіанній організації. Найвищий рівень оптичної густини специфічного забарвлення спостерігається о 02.00 год, а о 14.00 год вона знижується. Модифікація фотоперіоду призвела до вираженого порушення добових коливань досліджуваної оптичної густини специфічного забарвлення. Тижневе введення мелатоніну на фоні тривалого освітлення проявляється тенденцією до нормалізації оптичної густини специфічного забарвлення на мелатонін-рецептори 1А у нейронах надзорових ядер старих щурів, що

особливо помітно у зразках, відібраних на дослідження о 02.00 год, коли показник перебував у межах $0,408 \pm 0,0024$ у.о. опт.щільності.

Зміст і форма викладу відповідних (3-6) розділів дисертації засвідчує вміння дисертанта критично оцінювати одержані результати, а також високу ерудицію здобувача. Розділи власних досліджень документовано переважно відмінної якості 68 рисунками. Одержані результати об'єктивізовано кількісними методами дослідження, які представлені у 51 таблицях.

Логічно, що наприкінці кожного розділу власних досліджень автор наводить резюме у вигляді найважливіших підсумків проведеної серії експериментів, а також видання, в яких опубліковано отримані результати.

Аналіз та узагальнення результатів дослідження викладений в 7 розділі на 16 сторінках відповідає сучасним науковим тенденціям. Об'єктивно аналізуються і критично оцінюються отримані результати з відповідними даними інших науковців. Підведено ґрунтовні підсумки дисертаційного дослідження.

Наукові положення та висновки є вірогідними, обґрунтованими, що забезпечується достатньою кількістю експериментальних тварин, використанням сучасних високоінформативних методів дослідження, адекватною статистичною обробкою отриманих результатів із використанням сучасного програмного забезпечення, аналізом достатньої кількості літературних джерел.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці. Отримані автором нові фундаментальні відомості про морфофункціональні перебудови периферичних компонентів системи, що регулює добові ритми та адаптацію при впливі світла, можуть скласти базу для розробки нових підходів і принципів профілактики та лікування десинхронозу, пов'язаного з цілодобовим освітленням.

Вагомим здобутком дисертаційної роботи Сметанюка Олексія Васильовича є також отримання експериментальних даних, які розширюють відомості про нейропротекторні корегувальні властивості мелатоніну, що

підкреслює необхідність проведення подальших доклінічних досліджень.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача. Дисертація оформлена згідно існуючих вимог. Водночас, у цілому позитивно оцінюючи дисертаційну роботу Сметанюка Олексія Васильовича є наступні зауваження:

1. Наявні незначні граматичні і пунктуаційні помилки в тексті дисертації.
2. У роботі трапляються невдалі вислови: «протягом» замість «впродовж», «так як» замість «оскільки».
3. На мікрофотографіях у розділі 6 доцільно було б додати позначення, що могло б покращити їх візуальне сприйняття.

Виявлені недоліки носять більше рекомендаційний характер і не зменшують актуальності, наукової новизни, теоретичної і практичної цінності роботи.

У порядку дискусії хотілося б почути відповіді автора на наступні питання:

1. Якими критеріями ви користувалися для підтвердження зменшення оптичної густини специфічного забарвлення мелатонінових рецепторів у нейронах надзорних ядер гіпоталамуса при світловому стресі?
2. Який механізм пригнічення функціональної активності досліджуваних нейросекреторних клітин за умов постійного освітлення?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. Підчас ознайомлення з матеріалами дисертації та аналізу наукових публікацій здобувача фактів академічного плагіату не виявлено. Тестування оригінальності авторського тексту дисертаційної роботи проведено за допомогою програмного забезпечення «Antiplagiarism» і визначено високий рівень оригінальності – 95%. Наявності порушень академічної доброчесності в дисертаційному дослідженні Сметанюка Олексія Васильовича не виявлено.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Кваліфікаційна робота Сметанюка Олексія Васильовича подана на здобуття ступеня доктора філософії «Вікові аспекти структурно-функціонального стану великоклітинних ядер гіпоталамуса при стресогенних впливах», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» є самостійною науковою працею, що вирішує актуальну експериментальну задачу, за результатами якої написані й опубліковані статті в реферованих журналах, її результати представлені на наукових конференціях і наукових школах.

За науковим рівнем, рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, новизною та оригінальністю, рівнем оприлюднення та впровадження отриманих результатів, дисертаційна робота відповідає вимогам, що відповідають наказу МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. № 40 та «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, а її автор – Сметанюк Олексій Васильович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент,

професор кафедри фундаментальних

загальнонаукових дисциплін ПВНЗ «Харківський

міжнародний медичний університет»,

доктор медичних наук, професор

19.07.2022 р.

*Згідно з оригіналом
Завідуюча відділу кадрів
Тіварь Тіварь С.С.*



Денис ШИЯН