

До спеціалізованої вченої ради  
PhD 12947 Інституту фізіології  
ім. О.О. Богомольця НАН України  
м. Київ, вул. Богомольця, 4

### ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора,  
професорки кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка

**Цимбалюк Ольги Володимирівни**

на дисертацію **Струтинського Владислава Руслановича** на тему  
«**Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній  
ендотоксемії у щурів**», подану до захисту на здобуття наукового ступеня  
доктора філософії

з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

**Актуальність теми дисертації.** Здатність до тривалої генерації та підтримання напруження, а також здійснення скорочувальної функції міометрія відіграє важливу роль у нормальному функціонуванні репродуктивної системи жіночого організму, обумовлюючи, зокрема, нормальний перебіг вагітності і пологів. Гладеньком'язова тканина матки залежно від впливів нервових і гормональних сигналів, головним з яких є утеротонічний гормон окситоцин, генерує різні патерни скоротливої активності – від ритмічних перистальтичних до тривалих тонічних скорочень. Гіперзбудливість міометрія підчас вагітності є безпосередньою причиною передчасних пологів. Натепер препарати-токолітики, які використовуються для відтермінування передчасних пологів, не здатні призупинити пологову активність на понад дві доби, тож їх застосування дозволяє підготувати максимально сприятливі умови для передчасних пологів, але не дозволяє уникнути передчасних пологів.

Ендотоксемія як патологічний стан організму розвивається при появі значної кількості ліпополісахаридних комплексів (їх концентрація у крові здорових людей становить 1,9-20 пг/мл, тоді як у випадку сепсису досягає найвищих значень – близько 580 пг/мл) зовнішніх стінок грамнегативних бактерій, супроводжується системним запаленням. Ендотоксемія на клітинному рівні обумовлюється взаємодією ліпополісахаридів (ЛПС) з Toll-подібними рецепторами TLR4 і вивільненням прозапальних цитокінів. Важливо відзначити, що ендотоксемія найчастіше виникає внаслідок порушень цілісності міжклітинних контактів в ендотелії кишечника і, як наслідок, послаблення кишкового бар'єру (leaky gut).

За довготривалих станів ендотоксемії суттєво підвищується ймовірність розвитку таких патологій як жирова дистрофія печінки, серцево-судинні захворювання, діабет 2-го типу, нейродегенеративні захворювання тощо. Також за ендотоксемії спостерігаються порушення репродуктивних функцій організму, зокрема гіперзбудливість міометрія, яка призводить до передчасних пологів.

З огляду на поширеність передчасних пологів (понад 10% від загальної кількості) та їх серйозні наслідки (значна летальність та висока ймовірність порушень постнатального розвитку у дітей, які народилися передчасно), дослідження, спрямовані на з'ясування механізмів підвищеної збудливості-скоротливості міометрія за ендотоксемії та їх нормалізації, є вкрай необхідними і надзвичайно актуальними. Саме на вирішення цього завдання спрямоване дисертаційне дослідження Струтинського Владислава Руслановича на тему «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів».

Тож мета дисертаційного дослідження Струтинського Владислава Руслановича на тему «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» є надзвичайно актуальною.

**Завдання** дослідження сформульовані коректно.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано у відділі імунофізіології Інституту ім. О.О. Богомольця НАН України в межах наукових тем «Роль аларміну амфотерну, сиртуїнів та наночастинок металів за умов імуноіндукованих розладів жіночої репродуктивної системи» та «Механізми та шляхи корекції регульованої загибелі клітин імунної (тимуса і лімфатичних вузлів) та репродуктивної (яєчників і сім'яників) систем».

**Структура роботи.** Дисертаційна робота В.Р. Струтинського «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» містить такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень та їх обговорення», «Узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додаток». Дисертацію викладено на 171 сторінці друкованого тексту і проілюстровано 45 рисунками та 1 таблицею. Список літератури сформовано з 201 найменування.

**Вступ** до дисертації автором написано послідовно і лаконічно. У ньому обґрунтовано актуальність теми, окреслено мету та завдання дослідження, проаналізовано наукову новизну і власний внесок автора, окреслено об'єкт, предмет і методи дослідження, наведено інформацію про публікації та апробацію результатів дисертаційної роботи.

У першому розділі «**Огляд літератури**» автором на дуже високому

рівні проаналізовано дані сучасної наукової літератури щодо кількох аспектів, які мають безпосереднє відношення до проблеми, вирішеної у дисертаційній роботі. По-перше, наведено ґрунтовний аналіз інформації щодо структурно-функціональних особливостей матки, механізмів генерації і регуляції скорочувальної активності міометрія; зокрема розкрито молекулярні механізми, які лежать в основі процесів релаксації у міоцитах. По-друге, автором проаналізовано механізми і закономірності гормональної регуляції збудливості і скоротливості міометрія; особливу увагу зосереджено на регуляторній ролі окситоцину як головного утеротонічного гормону. По-третє, автором дисертації розкрито механізми розвитку і реалізації патологічних патернів скорочувальної активності міометрія за ендотоксемії. По-четверте, оскільки ендотоксемія обумовлює потужний окисний стрес у тканинах і органах, автор розкриває молекулярні механізми розвитку окисного стресу і характеризує антиоксидантні системи, зокрема акцентує увагу на внеску глутатіону у антиоксидантні процеси.

Другий розділ дисертаційної роботи **«Матеріали та методи досліджень»** містить детальний опис використаних при виконанні дисертаційного дослідження експериментальних методів: фізіологічних, молекулярно-біологічних, біохімічних. Зокрема, детально описано схему експерименту з вивчення модуляції скорочувальної активності при ендотоксемії, а також за даних умов зміни експресії генів, важливих для збудливості-скоротливості, міометрія, спричиненої введенням ліпополісахариду. Також у цьому розділі надано детальний опис методичних підходів для характеризування скорочувальної активності міометрія. Крім того, автор детально описав методики визначення біохімічних маркерів окисного стресу. Тож цей розділ містить усю необхідну інформацію про методи, які були застосовані для комплексного дослідження механізмів зміни окситоцин-активованих скорочень міометрія щурів за експериментальної ендотоксемії.

У наступному розділі **«Результати досліджень та їх обговорення»** В.Р. Струтинським поетапно і логічно викладено результати власних досліджень. Так, у першому підрозділі **«Вплив ліпополісахариду на скоротливу функцію міометрія матки щурів за умов *ex vivo*»** у порівняльному аспекті наведено інформацію щодо закономірностей модуляції спонтанних скорочень міометрія щурів у контролі та за експериментальної ендотоксемії. Встановлений активаційний вплив бактерійного ліпополісахариду на напруження і параметри спонтанних скорочень, що узгоджується з даними щодо порушеннями фертильності жінок з ендотоксемією.

Другий підрозділ **«Окситоциніндукована скоротлива активність і базальний тонус міометрія матки щурів за різних умов експерименту»**

містить результати досліджень автора щодо окситоцин-активованих скорочень і базального напруження міометрія, у контролі та за експериментальної ендотоксемії; встановлено, що, як і у випадку спонтанних скорочень, за дії *in vivo* ліпополісахариду спостерігається значне посилення окситоцин-активованих скорочень.

Третій підрозділ «**Вплив глутатіону на окситоциніндуковану скоротливу активність і базальний тонус міометрія матки щурів**» містить результати досліджень щодо ефективності введення глутатіону для нормалізації характеристик окситоцин-активованої скорочувальної функції міометрія за експериментальної ендотоксемії; доведено, що введення в організм цього антиоксиданту суттєво покращує функції міометрія за введення ліпополісахариду.

У четвертому підрозділі дисертаційної роботи «**Ефекти активації АТФ-чутливих калієвих каналів флокаліном на окситоциніндуковану скоротливу активність міометрія матки щурів за умов експериментальної ендотоксемії**» автор наводить результати вивчення ефектів активації  $K_{ATP}$ -каналів на скорочувальну функцію міометрія при ендотоксемії; доведено, що за активації цих каналів флокаліном суттєво зменшуються ефекти ліпополісахариду, що, як і у випадку застосування глутатіону може бути ефективною стратегією нормалізації функціонування гладеньких м'язів матки за ендотоксемії.

П'ятий підрозділ «**Вплив глутатіону на регуляторні та захисні сигнальні шляхи при експериментальній ендотоксемії у матці щурів**» містить результати дослідження рівнів експресії мРНК генів, які кодують окситоцинові рецептори, ензими антиоксидантного захисту і синтезу  $SH_2$ , а також субодиниці  $K_{ATP}$ -каналів. Автором аргументовано доведено, що за ендотоксемії суттєво зростає експресія окситоцинових рецепторів,  $K_{ATP}$ -каналів і частини антиоксидантних ензимів, але зменшується у випадку супероксиддисмутази. Важливо, що за введення глутатіону тваринам з моделлю ендотоксемії попереджало практично всі зміни експресії генів, що додатково розкриває терапевтичний потенціал цього антиоксиданту при запальних змінах міометрія.

У шостому підрозділі «**Окисно-відновний баланс у тканині матки та плазмі крові щурів при дії ліпополісахариду та екзогенного глутатіону**» автор систематизував результати досліджень маркерів окисного стресу (за показниками швидкостей напруження супероксид-аніона і гідроксильного радикала, концентрації перекису водню, малонового діальдегіда і дієнових кон'югатів, а також значеннями активностей індукцибельної і конститутивних ізоформ NO-синтаз) у нормі, за ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії та у разі застосування глутатіону при ендотоксемії. Автор довів, що значне

посилення окисного стресу в тканинах матки за ендотоксемії та ефективність введення глутатіону як засобу, який запобігає оксидативному і нітрозитивному стресу за ендотоксемії.

Важливо, що кожен підрозділ експериментальної частини дисертаційної роботи В.Р. Струтинського містить заключний абзац з коротким підсумком і посиланням на публікації автора, в яких висвітлено результати результати.

Загалом, результати наукової експертизи методичного та експериментального розділів роботи беззаперечно вказують на те, що В.Р. Струтинський є висококваліфікованим науковцем-експериментатором, який здатен самостійно вирішувати складні наукові проблеми біології.

Четвертий розділ дисертаційної роботи «**Узагальнення результатів досліджень**» містить детальне і аргументоване узагальнення отриманих у роботі результатів, додаткове обговорення механізми реалізації окремих патологічних ефектів введення ліпополісахариду та застосування антиоксиданта глутатіону і активатора  $K_{ATP}$ -каналів флокаліну на порушення спонтанної і окситоцинактивованої скоротливості матки щурів. Особливо варто відзначити, що у даному розділі автор навів узагальнюючу схему механізмів протекторної дії глутатіону за ендотоксемії.

**Висновки** дисертаційної роботи Струтинського Владислава Руслановича «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» відповідають її змісту та поставленій меті, співставні з поставленими завданнями та висвітлюють головні наукові здобутки автора.

**Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертація В.Р. Струтинського на тему «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» є закінченою кваліфікаційною роботою, в якій отримано нові наукові результати, що мають велику теоретичну і практичну цінність. Дослідження проведено з використанням достатньої кількості експериментального матеріалу і повторюваності дослідів. Аналіз одержаних результатів проведено із використанням комплексу максимально адекватних і сучасних методів та підходів. Залучення найбільш нових вітчизняних і закордонних наукових публікацій з досліджуваної тематики дало змогу автору всебічно проаналізувати та обговорити отримані результати досліджень. Подані у кінці кожного підрозділу висновки обґрунтовані результатами власних експериментальних досліджень, які належним чином проаналізовані статистично. Виклад основного матеріалу дисертації є коректним та відзначається високим науково-теоретичним рівнем.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Розглядаючи основні

питання наукової новизни представленої дисертації, необхідно відзначити, що В.Р. Струтинський вперше здійснив комплексне дослідження закономірностей і механізмів порушення окситоцинактивованих скорочень міометрія за ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії.

Також у цьому дослідженні із використанням низки методів вперше встановлено здатність глутатіону запобігати порушенням скоротливості міометрія при ендотоксемії.

Варто відзначити також вперше виявлені В.Р. Струтинським властивості активатора  $K_{ATP}$ -каналів флокаліну як препарату для нормалізації базального тонусу і окситоцин-активованої скоротливої активності міометрія при ліпополісахаридіндукованих порушеннях функції міометрія.

**Практичне значення роботи.** Необхідно відзначити, що дисертаційна робота В.Р. Струтинського «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» має непересічне практичне значення, оскільки в ній розкрито механізми нормалізації гіперскоротливості матки глутатіоном і флокаліном при ендотоксемії. Ці результати можуть бути безпосередньо використані для створення новітніх стратегій терапії порушень функцій тканин матки при ендотоксемічних патологіях репродуктивної системи.

Також, результати дисертаційної роботи «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» мають суттєве практичне значення з точки зору їх впровадження в педагогічний процес вищих навчальних закладів біологічного та медичного спрямування.

**Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.** Дисертація В.Р. Струтинського «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» виконана на достатньому експериментальному матеріалі за допомогою групи найбільш адекватних сучасних методик відповідно до мети та завдань дисертаційної роботи. Усі наукові положення і висновки цілком обґрунтовані, впливають зі змісту дисертаційної роботи, мають теоретичне і практичне значення.

Матеріали дисертаційної роботи повністю відображені в 10 друкованих наукових працях, з яких 5 – статті у фахових наукових виданнях (усі у фаховому виданні України, що за класифікацією SCImago Journal Country & Rank належить до Q4), а також 5 тез доповідей (зокрема, одні у фаховому журналі, що індексований у наукометричній базі даних Scopus, і належить до Q4).

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** У дисертації В.Р. Струтинського «Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів» не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень, що

могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертаційного дослідження.

### **Дискусійні положення та зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.**

Зауважень по суті до роботи не маю.

У процесі ознайомлення з матеріалами дисертаційної роботи у мене виникли наступні дискусійні моменти і запитання:

1. Схема досліджень скорочувальної активності ізольованих смужок міометрія матки щурів (рис. 2.1, розділ «Матеріали і методи» містить позначення 4-х груп щурів, де II група передбачала дослідження впливу окситоцину на скорочувальну активність ізольованих смужок міометрія матки щурів з експериментальною ендотоксемією при внутрішньоочеревинному введенні ліпополісахариду, а III група - дослідження ефектів активації  $K_{ATP}$ -каналів флокаліном на окситоциніндуковану скоротливу активність ізольованих препаратів міометрія матки щурів з експериментальною ендотоксемією. Навіщо було виділяти окремо III групу щурів, якщо потрібні дані можна було отримати з II групи за схемою: окситоцин – відмивання м'язів – флокалін – флокалін+окситоцин?
2. За експериментальної ендотоксемії активатор  $K_{ATP}$ -каналів флокалін суттєво зменшував окситоцин-активовані на скорочення (рис. 3.20). Чи була подібною дія флокаліну у випадку міометрія здорових тварин?
3. Чи були, на Вашу думку, при відтворенні короточасної експериментальної ендотоксемії, крім патологічних змін, активовані якісь захисні механізми?
4. З яких міркувань було обрано саме глутатіон як чинник антиоксидантного захисту та його дозування?

### **Зауваження до дисертації.**

1. Не дуже вдало використовувати формулювання «приріст частоти спонтанних скорочень» (рис. 3.6) до випадку від'ємних значень зміни частоти.
2. У роботі трапляються окремі опечатки і неточності, зокрема, на оригінальних механограмах рис. 3.11, 3.25 не позначено масштаб сили і часу, що ускладнює сприйняття.
3. На рис. 3.3 зображено типові механограми спонтанних скорочень і продемонстровано принцип розрахунку площ під спонтанними скороченнями у контролі та за дії ЛПС у концентрації 0,5 мкг/мл.

