

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертацію

ЛЕВЧЕНКО Олени Михайлівни

«АЛИМЕНТАРНО-ДИСБІОТИЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ І ПРОФІЛАКТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА»,

подану до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05

на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

за спеціальністю 14.03.04 - патологічна фізіологія

1. Актуальність теми дисертації

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НЖХП) — це самостійна нозологічна одиниця, яка за класичними уявленнями представляє собою поліетіологічний дифузний дисметаболічний процес, що триває понад 6 місяців та включає жирову дистрофію гепатоцитів, паренхіматозну лімфогістіоцитарну інфільтрацію та гіперплазію перисинусоїдальних зірчастих клітин, а також фіброз при збереженні структури печінки. До НЖХП відносять жирову дистрофію, жирову дистрофію із запаленням та ушкодженням гепатоцитів — неалкогольний стеатогепатит та фіброз із можливістю прогресії до цирозу, а у деяких випадках до гепатоцелюлярної карциноми.

Уявлення про НЖХП сформувалися відносно нещодавно, у 1962 році Н. Thaler описав гістологічну картину жирової дистрофії печінки, а поняття «неалкогольного стеатогепатиту» було сформульовано J. Ludwig у 1980 році при дослідженні печінки пацієнтів з ожирінням та цукровим діабетом.

НЖХП в розвинутих країнах реєструється у 20-35% дорослого населення, а у жінок віком понад 40 років – у 75% випадків. За даними дослідження NHANES III (Third National Health and Nutritional Examination Survey) поширеність жирової дистрофії печінки становить 16% випадків при нормальній масі тіла та до 76% при ожирінні. При цьому переважне значення має абдомінальний тип ожиріння.

В нормі ліпіди складають 1,5 % маси печінки. Транзиторне підвищення вмісту ліпідів у декілька разів може відбуватись після вживання жирної їжі. Жирова хвороба печінки розвивається при тривалому перенавантаженні печінки ліпідами у концентрації понад 5 %. Пояснення патогенезу НЖХП було запропоновано С.Р. Day та О.Ф. James у 1998 році у вигляді теорії двох ударів: перший (жирова дистрофія печінки) відбувається при надмірному накопиченні ліпідів у гепатоцитах, при другому (стеатогепатит) продукти окислення ліпідів пошкоджують паренхіму. Прогресування запалення активує процеси фіброгенезу та розвитку цирозу.

Останнім часом все більше поширюється думка про недоцільність використання терміну «неалкогольна» вважаючи нез'ясованим уявлення, про те, яка саме доза алкоголю у даної людини може викликати специфічну дегенерацію печінки. Більш доцільним є використання поняття «метаболічної жирової хвороби печінки та метаболічного стеатогепатиту», в етіології якого важлива роль належить аліментарним факторам, таким як високожирові раціони, споживання жирів з високим вмістом насичених жирних кислот, недостатнім споживанням антиоксидантних вітамінів (Е, С, Р).

На думку автора, низька ефективність профілактики й лікування НЖХП полягає у недооцінці стану однієї з найважливіших функцій печінки – антимікробної, яка чітко визначена в роботах проф. А. П. Левицького й його школи. Запропоновані в цих роботах антідисбіотичні засоби виявилися ефективними в профілактиці ускладнень цукрового діабету, метаболічного синдрому, імунодефіциту, надмірного споживання жирів. В останні роки з'явилися роботи про зв'язок жирового обміну з мікробною системою організму і вплив на обмін жирів препаратів про- і пребіотиків. Крім того, в профілактиці НЖХП майже не враховують роль харчових жирів, які до того ж суттєво відрізняються за своїм жирнокислотним складом.

У зв'язку з наведеним, вдосконалення профілактики й лікування НЖХП на основі патогенетичних механізмів, які враховують стан антимікробної функції печінки в розвитку дисбіозу і особливості дії на

організм харчових жирів з різним складом жирних кислот має важливе наукове та практичне значення. Отже, тема дисертаційної роботи, обрана Левченко О. М., актуальна, а виконане науковцем дослідження – вчасним та необхідним.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт, що виконувалися у ДУ «Інститут стоматології НАМН України» «Розробити комплексну профілактику і лікування стоматологічних захворювань у осіб з порушеннями травної системи шляхом використання гепатопротекторів» (шифр НАМН 077.09, № державної реєстрації 0109U000506), «Дисбіотичні аспекти патогенезу і профілактики стоматологічних ускладнень при імунодефіциті» (шифр НАМН 092.14, № державної реєстрації 0114U000379), «Дослідити вплив жирнокислотного складу харчових жирів на стан тканин ротової порожнини, печінки і шлунково-кишкового тракту і розробити рекомендації з жирового харчування» (Шифр НАМН 096.15, № державної реєстрації 0115U000271). Фрагменти цих робіт присвячені дослідженню ролі жирнокислотного складу і вивченню дисбіотичних механізмів у патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки. Дисертант був співвиконавцем зазначених тем.

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна

Завдання дослідження цілком відповідають поставленій меті. Побудова та організація роботи логічні та послідовні. У лабораторних дослідженнях застосовані сучасні об'єктивні методики, які адекватні поставленим завданням. Було виконано 16 експериментальних серій, в яких був використаний 391 щур і різні харчові жири: соняшникова, оливкова, пальмова та кокосова олії і вершкове масло. Для відтворення токсичного гепатиту використовували тетрахлорметан (CCl_4), ендотоксинемії – препарати кишкового ендотоксину (ліпополісахарид) з *E. coli*, дисбіозу –

антибіотик лінкоміцин, імунодефіциту – цитостатик циклофосфан або кортикостероїд преднізолон, у якості антидисбіотичних засобів – інулін, кверцетин, синбіотик «Біфі-Форм комплекс», лізоцим у желатиновому розчині та мукозо-адгезивні фітогели. Результати досліджень опрацьовані статистичними методами аналізу, що забезпечило високу вірогідність сформульованих наукових положень, висновків і практичних рекомендацій.

4. Новизна дослідження та одержаних результатів

Дисертант на підставі даних проведених досліджень встановив, що високожирові раціони з високим вмістом пальмітинової кислоти (пальмова олія і вершкове масло) збільшують не тільки приріст живої маси, але й збільшує в печінці та у сироватці крові вміст тригліцеридів і загального холестерину, підвищують рівень вільних жирних кислот в сироватці крові, підшкірному і вісцеральному жиру. Показано, що соняшникова олія (60% лінолевої кислоти) збільшує у ліпідах печінки вміст насичених жирних кислот, олеїнової, лінолевої і арахідонової кислот і знижує рівень ω -3 поліненасичених жирних кислот. Оливкова олія (75 % олеїнової кислоти) збільшує в ліпідах печінки вміст насичених жирних кислот і олеїнової кислоти і мало впливає на вміст поліненасичених жирних кислот. Пальмова олія (50% пальмітинової кислоти) і вершкове масло (30% пальмітинової кислоти) збільшує в ліпідах печінки вміст насичених жирних кислот, олеїнової, лінолевої і арахідонової, але знижують рівень ω -3 поліненасичених жирних кислот. Встановлено, що вісцеральна і підшкірна жирова тканина містить слідові кількості ω -3, за виключенням лінолевої ($C_{18:3}$), рівень якої складає 14-20 %. Кишковий дисбіоз, системна ендотоксинемія і різні форми імунодефіциту у тварин, які отримували високо жировий раціон, посилюють стеатоз печінки, підвищують гіперліпідемію і обумовлюють розвиток стеатогепатиту. Лікувальні мінеральні води, особливо у поєднанні з синбіотиками, здійснюють гепатопротекторну дію, знижуючи дисбіотичні явища у кишечнику і в печінці. Композиція з біофлавоноїду кверцетину, пребіотика інуліну і цитрату кальцію (дієтична добавка «Квертулін»)

спричиняє лікувально-профілактичну дію при стеатогепатиті. Патогенетично обґрунтовано антидисбіотичну і гепатопротекторну дію високоолеїнової соняшникової олії. Вперше розроблена рецептура дієтичної добавки, яка містить 5 незамінних жирних кислот, і показана її здібність істотно підвищувати рівень ω -3 жирних кислот у печінці й сироватці крові, що дає можливість усувати дефіцит цих фізіологічно важливих нутрієнтів при високожировому харчуванні.

5. Теоретичне значення результатів дослідження

Проведені дослідження дозволили доповнити уявлення про роль жирнокислотного складу харчових жирів, дисбіотичні механізми в патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки. На основі результатів власних досліджень розглянуті нові патогенетичні механізми, які враховують стан антимікробної функції печінки в розвитку дисбіозу і особливості дії на організм харчових жирів з різним складом жирних кислот які можуть лежати в основі профілактика й лікування неалкогольного стеатогепатиту.

6. Практичне значення результатів дослідження

На основі результатів дослідження розроблена експериментальна модель жирової хвороби печінки шляхом відтворення у щурів кишкового дисбіозу на тлі високожирного харчування з використанням пальмової олії. Розроблено рецептури антидисбіотичної добавки «Квертулін» і препарату «Ліпосан (вітамін F)». Обґрунтовано застосування в харчуванні високоолеїнової соняшникової олії «Оливка». На всі засоби розроблена технічна документація і отримано дозвіл МОЗ України на їх застосування.

7. Загальна характеристика роботи

Мета роботи – обґрунтувати роль жирнокислотного складу харчових жирів, з'ясувати дисбіотичні механізми в патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки і розробити підходи до аліментарно-антидисбіотичної профілактики цього патологічного процесу.

Оформлення дисертації відповідає сучасним вимогам. Робота викладена на 212 сторінках машинописного тексту і складається із вступу,

огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, 5 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій і списку використаної літератури, який містить 307 джерел (з них 194 кирилицею та 113 – латиницею). Дисертація ілюстрована 69 таблицями, 54 рисунками.

В огляді літератури представлено дані про визначення нозології неалкогольної жирової хвороби печінки, показана клінічна характеристика їх різних форм (стадій). Розглянуті основні версії розвитку неалкогольного стеатогепатиту, які передбачають участь надмірного харчування та ендогенної мікробіоти в його патогенезі. Висвітлено сучасний стан проблеми профілактики і лікування неалкогольного стеатогепатиту. Обґрунтована доцільність пошуку нових засобів з гепатопротекторною і антидисбіотичною активністю.

Розділ «Матеріали і методи досліджень» відображає загальні характеристики предмету та об'єкту досліджень, а також включає стислий опис використаних методів дослідження. Були використані харчові жири: соняшникова олія, оливкова олія, пальмова олія, кокосова олія і масло вершкове селянське, проведено 16 серій дослідів, в яких був використаний 391 щур. У розділі наведено опис експериментальних моделей та біохімічні методи дослідження, що були застосовані при виконанні роботи.

У розділі 3 «Вплив високожирових раціонів з різним складом жирних кислот на стан печінки щурів» автором представлені основні характеристики жирів, їх вплив на стан печінки, жирно кислотний склад ліпідів печінки щурів після жирового навантаження. Встановлено, що одноразове жирове навантаження (споживання комбікорму +15% соняшникової олії) через 1 годину після годування знижує в печінці вміст тригліцеридів на 27,6% і збільшує в сироватці крові на 90%, що може свідчити про екстрену мобілізацію жиру з печінки після харчового навантаження. Високожирові раціони, що містять додатково 15% харчового жиру на протязі 41 днів збільшують на 24-36% приріст живої маси (в більшій мірі – пальмова),

підвищують вміст жиру в печінці (на 10,2-41%, в більшій мірі – пальмова) і в сироватці крові (на 94,7-268,4%, в більшій мірі – масло вершкове і пальмова). Вміст загального холестерину зростає в сироватці на 50,6-75,9% (в більшій мірі після введення пальмової олії). Високожировий раціон, що містять пальмову олію або вершкове масло підвищують в печінці активність еластази, свідчать про розвиток запалення (стеатогепатиту), обумовлене високим вмістом пальмитинової кислоти у цих жирах.

Наступний (четвертий) розділ присвячений дослідженню жирнокислотного складу ліпідів в тканинах щурів, які отримували різні харчові жири. Проведено аналіз жирнокислотного складу ліпідів у печінці, сироватці крові і в жировій тканині щурів, які отримували додатково 15% соняшникової, оливкової, пальмової олії та вершкового масла на протязі 41 дня. Показано як змінюється вміст вільних жирних кислот у печінці, сироватці крові та жировій тканині в залежності від того які жири вживали у їжу щурі на протязі 41 днів.

У п'ятому розділі наведено результати дослідження ролі дисбіозу в патогенезі стеатогепатиту. Розглянуто розвиток стеатогепатиту при поєднанні високожирових раціонів з кишковим дисбіозом, вплив кишкового ендотоксину (ліпополісахариду) та кортикостероїдів (преднізолону) на розвиток стеатогепатиту. Приведено результати досліджень впливу різних жирів на розвиток дисбіозу в організмі щурів. Встановлено, що високожировий раціон викликає розвиток генералізованого дисбіозу, а його поєднання з кишковим дисбіозом підсилює стеатоз печінки, гіперліпідемію та обумовлює розвиток стеатогепатиту.

Наступний (шостий) розділ присвячений результатам вивчення експериментальної профілактики і терапії гепатитів. Досліджено здібність низки лікувальних мінеральних вод до здійснення реабілітації після перенесеного токсичного гепатиту. Проведено порівняння гепатопротекторної ефективності синбіотика, біофлаваноїда, пребіотика та їх поєднання при токсичному гепатиті. Встановлено, що лікувальні мінеральні

води спричиняють гепатопротекторну і антидисбіотичну дію при експериментальному токсичному гепатиті. Гепатопротекторий і антидисбіотичний ефекти мінеральної води підсилюється при поєднанні синбіотика. Розроблена рецептура комплексного гепатопротектора «Квертулін».

У цьому розділі описано експериментальну профілактику стеатогепатиту. Проведено вивчення вмісту тригліцеридів і холестерину в печінці і сироватці крові тварин з системною ендотоксинемією впливу на ці показники лікувально-профілактичних препаратів, високоолеїнової олії «Оливка», препарату незамінних жирних кислот «Липосан» та нового препарату «Квертулін», який містить біофлаваноїд кверцитин, пребіотик інουλін, цитрат кальцію.

Висновки та практичні рекомендації логічно впливають із обговорення отриманих результатів і відповідають меті і завданням дослідження, узагальнюючи основні положення роботи.

8. Повнота матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

Опубліковано 34 наукових робіт, у тому числі 25 статей, з яких 16 – статті у наукових фахових виданнях України та 5 статей у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, 1 монографія, 2 патенти на корисну модель, 1 технічні умови та 5 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій. Автореферат відображає основні положення наукової праці, детально висвітлює наукову новизну, теоретичне та практичне значення роботи.

9. Зауваження до дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення

На нашу думку, у тексті дисертації трапляються стилістичні недоліки, а у авторефераті – недоліки у термінах на українській мові. Дуже лаконічними є обговорення таблиць та рисунків. У авторефераті не надано описання статичних методів дослідження. У тексті дисертації доцільно було б

розширити розділ «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» за рахунок обговорення отриманих даних у співставленні з даними сучасної наукової літератури. Однак вказані критичні міркування не зменшують науково-теоретичного і практичного значення дисертації Левченко О. М. та цінність отриманих результатів.

У порядку наукової дискусії вважаємо необхідним обговорити такі запитання:

1. Який патогенетичний механізм впливу системної ендотоксемії на розвиток стеатозу печінки?
2. З чим Ви пов'язуєте гепатопротекторну дію лікувальних мінеральних вод?
3. Як жири з високим вмістом пальмітинової кислоти впливають на атеросклеротичне ушкодження судин?
4. Який основний патогенний механізм впливу на печінку кишкового дисбіозу?

10. Рекомендації щодо використання результатів дослідження в практиці

Запропонована дисертантом експериментальна модель неалкогольного стеатогепатиту, розроблені рецептури антидисбіотичної добавки «Квертулін» і препарату «Ліпосан (вітамін F)» можуть застосовуватися у практичній роботі лікарями-гастроентерологами, а також іншими спеціалістами, які в практичній діяльності стикаються з необхідністю надавати допомогу пацієнтам з захворюваннями печінки. Впровадження пропозицій дасть змогу покращити якість профілактики та надання допомоги пацієнтам, що хворі на неалкогольну жирову хворобу печінки та зменшити частоту розвитку тяжких випадків.

11. Відповідність дисертації вимогам, які пред'являються

На основі всебічного аналізу представленої роботи можна прийти до висновку, що дисертація Левченко Олени Михайлівни на тему «Алиментарно-дисбіотичні аспекти патогенезу і профілактики

неалкогольного стеатогепатита», яка виконана у ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» МОЗ України, консультант – заслужений діяч науки і техніки України, професор Гоженко А. І., є самостійною, закінченою науковою працею, проведеною на високому методичному рівні з використанням сучасних методів дослідження, в результаті чого отримані цінні дані та сформульовані положення, які роблять суттєвий внесок у справу удосконалення профілактики та лікування хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. Дисертація відповідає вимогам п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів № 567, які ставляться до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, а її автор О. М. Левченко заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 - патологічна фізіологія.

Завідувач відділу патофізіології, імунології та трансплантології Українського науково-практичного центру ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України, д.мед.н., професор



С. В. Зябліцев

Зідниче Зябліцева С.В. засвідчую

інспектор з кар'єри



(підписав Р.В.)