

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Гнатюк Валерії Валеріївни «Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках», подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія – до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті МОН України

### **1. Актуальність теми дисертації.**

Праця В.В. Гнатюк присвячена дуже актуальній проблемі патологічної фізіології та медицини загалом – механізмам розвитку виразок шлунку, патогенезу виразкової хвороби шлунку та дванадцятипалої кишки. Вказана хвороба є найпоширенішою в усьому світі недугою, на яку хворіє 7–10 % усього дорослого населення. В Україні від виразкової хвороби страждає близько 12–15 % населення, причому 62–74 % з них – це люди працездатного віку. Нерідко виразкова хвороба є причиною інвалідності, вона може призводити до тяжких ускладнень, які у ряді випадків мають летальні наслідки, що зумовлює медичну та соціальну значущість проблеми. Зустрічається це захворювання у людей будь-якого віку, але частіше в активному працездатному віці – 20-40 років.

Виразкова хвороба – захворювання певною мірою соціальне, психосоматичне. Основу його виникнення та розвитку складають різні фактори: від інфікування *Helicobacter pylori* (НР) до пов'язаних з професійною діяльністю людини (робота в нічній час), напруження нервової та ендокринної систем (стреси, негативні емоції), перевтома, порушення ритму сну та ін.

Незважаючи на чималу кількість наукових робіт з вивчення етіології та патогенезу виразкової хвороби, остаточно механізми її розвитку не з'ясовані, особливо це стосується НР-негативної виразкової хвороби. Останнім часом з'явився новий погляд на механізми розвитку виразкової хвороби – з позиції порушення біологічних ритмів різних фізіологічних процесів організму людини. Провідна роль при цьому відводиться мелатоніну – гормону епіфізу, що виконує функцію регуляції біоритмів організму. Для епіфізарного мелатоніну визначені добові коливання, доведений зв'язок між змінами його секреції та розвитком різних захворювань внутрішніх органів. При цьому, окрім шишкоподібної залози, цей гормон синтезується клітинами дифузної нейроендокринної системи – екстрапінеальний мелатонін, функції якого в організмі та при виразковій хворобі досліджені недостатньо.

З'ясування механізмів участі мелатоніну із різних джерел синтезу у розвитку гастральних виразок на підставі виявлення структурно-метаболічних і функціональних змін в організмі щурів дозволить запропонувати нову схему участі мелатоніну в патогенезі виразкової хвороби та обґрунтувати її патогенетичну корекцію з використанням екзогенного мелатоніну, що вказує на безперечну актуальність та своєчасність

дисертаційного дослідження.

## **2. Зв'язок теми дисертації з плановими науковими дослідженнями та науковими програмами.**

Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету МОЗ України і є самостійним фрагментом двох науково-дослідних тем медичного, патофізіологічного спрямування, що мають державну реєстрацію: «Фармакологічне дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ держ. реєстрації 0103U000478) та «Клітинні та молекулярні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (№ держ. реєстрації 0115U000966). Тему дисертації було погоджено з проблемною комісією МОЗ і НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» та затверджено Вченою радою Національного фармацевтичного університету МОЗ України.

## **3. Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів.**

Дисертантом проведено низку нових наукових досліджень та отримано ряд нових результатів.

Зокрема, дано кількісну оцінку вмісту епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну, а також тестостерону у щурів різної статі та віку в різні сезони року, при гастральних виразках і десинхронозі.

Проведено дослідження синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та чоловічого статевого гормону у щурів різного віку та статі з гастральними виразками на тлі десинхронозу та пінеалектомії і встановлено кореляційний зв'язок між синтезом тестостерону і мелатоніну, визначено напрямок та силу цього зв'язку.

За результатами імуногістохімічного дослідження мелатонін-імунопозитивних клітин слизової оболонки шлунка встановлено наявність 3-х типів клітин, які відрізняються за своєю морфологічною будовою та функцією; визначено зміни їх загальної кількості та співвідношення різних типів клітин при десинхронозі, гастральній виразці, виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу і пінеалектомії.

Експериментально доведено позитивний вплив екзогенного мелатоніну на динаміку репаративних процесів, патогенетично обґрунтовано доцільність його застосування в комплексній терапії виразкової хвороби.

Відповідно, наукові положення та висновки, сформульовані на підставі нових проведених досліджень та отриманих результатів, теж характеризуються виразною науковою новизною.

## **4. Теоретичне та практичне значення роботи.**

Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням. Автором одержано нові наукові дані, що розширюють існуючі уявлення про участь мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка, дають пояснення особливостям виникнення виразкової хвороби саме у чоловіків

репродуктивного віку.

Доведена можливість застосування екзогенного мелатоніну як ефективного компонента у комплексній терапії виразкової хвороби та профілактиці її ускладнень.

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічну роботу на кафедрах патологічної фізіології низки вищих медичних та фармацевтичного навчальних закладів України.

### **5. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Дисертаційна робота В.В. Гнатюк виконана з використанням сучасних високоінформативних методів досліджень (морфометричних, гістологічних, біохімічних, імуноферментних, імуногістохімічних, статистичних), на великій кількості тварин (552 щура). Представлені автором положення і висновки відповідають даним, які одержані експериментально, і є логічним наслідком результатів досліджень. Застосовані методики дослідження та експериментальні моделі адекватні вирішенню завдань дослідження. Статистичну обробку даних проведено в повному обсязі, їх вірогідність не викликає сумнівів.

Достовірність основних положень та висновків безперечна, оскільки вони зроблені на підставі результатів, отриманих у дослідженнях на великому за кількістю і різноманітному дослідному матеріалі (тканини слизової оболонки шлунка, сироватка крові), при різних експериментальних умовах. Робота проведена методично правильно, має всі необхідні групи контролю.

Таким чином, положення і висновки, сформульовані автором, базуються на результатах власних досліджень і за суттю відповідають їм.

### **6. Структура та обсяг дисертації.**

Дисертація В.В. Гнатюк побудована за стандартним зразком і повністю за обсягом і змістом відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, 5 розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, додатків, списку використаних джерел (обсягом 31 сторінка), який містить 283 найменування: 199 робіт кирилицею та 84 роботи – латиницею. Дисертаційна робота викладена на 300 сторінках друкованого тексту (основний текст розміщено на 250 сторінках), ілюстрована 81 рисунком та 22 таблицями.

Текст дисертації, як за змістом, так і редакційно, викладено та оформлено дисертантом якісно. Назва роботи повністю відповідає меті та основному змісту дисертаційного дослідження. Викладення основних положень за стилем та термінологією заслуговує позитивної оцінки.

### **7. Характеристика розділів роботи.**

У вступі автор висвітлює сучасний стан проблеми, обґрунтовує актуальність обраної теми, розкриває зв'язок з науковими планами, формулює

мету та задачі дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, особистий внесок здобувача, наводить дані про апробацію матеріалів дисертації, кількість публікацій за темою дисертаційної роботи. Дисертант досить повно розкрив підстави та вихідні дані для розроблення теми, обґрунтував необхідність та доцільність проведення досліджень за темою дисертаційної роботи.

В огляді літератури, який складається з трьох підрозділів, представлені сучасні погляди на етіологію та патогенез виразкової хвороби. Проведено аналіз сучасних поглядів на роль мелатоніну у розвитку захворювань внутрішніх органів. Дисертант докладно проаналізував та підсумував наукові праці щодо відомостей про різні джерела синтезу мелатоніну та його біологічні ефекти. Надав відомості щодо ролі порушень біоритмів у розвитку виразкової хвороби. Наведені дані літератури визначили актуальність та доцільність проведення даного дослідження. Виокремлено основні проблеми, які недостатньо вивчені. Розділ написано чітко, лаконічно та в достатньому обсязі. Мета і завдання дослідження є логічними висновками основних положень огляду літератури.

У 2-му розділі автором детально наведені методи досліджень: морфометричні, гістологічні, біохімічні, імуноферментні, імуногістохімічні та статистичні. Використані методи відображають сучасний методичний рівень наукових досліджень в патофізіології. Наведені дані щодо методів статистичного аналізу свідчать про вірогідність і відтворюваність результатів і можливість порівняння отриманих результатів з літературними даними.

Розділ 3 присвячений вивченню статевих і вікових особливостей синтезу мелатоніну у щурів. Дисертант проводить дослідження в різні сезони та при різних патологічних станах – десинхронозі, виразковому ураженні шлунка, при виразковому ураженні шлунка на тлі десинхронозу. За результатами досліджень дисертантом встановлено циркануальний ритм секреції мелатоніну у щурів обох статей різного віку з найменшим рівнем мелатоніну в крові восени та навесні, що свідчить про розвиток сезонного фізіологічного десинхронозу в період біологічної весни та осені. У всі сезони найбільший рівень мелатоніну в крові як у самців, так і у самок визначався у щурів віком 3 міс., а найменший – у тварин віком 20 міс. У той же час восени низька концентрація мелатоніну була характерна для самців активного репродуктивного віку (9 міс.), що відповідає віку людини 29–30 років. Встановлено, що на тлі світлового десинхронозу, виразкового ураження шлунка та їх поєднанні відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей усіх вікових груп. Найбільше зниження рівня мелатоніну виявлено у щурів-самців віком 9 та 15 міс., що відповідає віку людини 29–30 та 43–44 роки.

У розділі 4 «Дослідження статевих і вікових особливостей синтезу тестостерону у щурів» автор доводить, що для тестостерону також притаманний циркануальний ритм секреції, але тільки у щурів-самців. Дисертантом встановлено, що при світловому десинхронозі, виразковому

ураженні шлунка та їх поєднанні відбувається достовірне підвищення вмісту тестостерону у щурів усіх вікових груп як чоловічої, так і жіночої статі. При цьому звертає увагу, що максимальний рівень гормону був характерний для самців віком 9 та 15 міс. З метою з'ясування можливого зв'язку між секрецією мелатоніну і тестостерону дисертант розрахував коефіцієнти кореляції та встановив існування негативного зворотного зв'язку між рівнем мелатоніну і тестостерону у статевозрілих щурів-самців у всі сезони року, який посилюється у щурів-самців та з'являється у щурів-самок різного віку на тлі десинхронозу, виразкового ураження шлунка та їх поєднання.

У розділі 5 дисертант наводить результати морфологічного та імуногістохімічного досліджень стану мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка. За результатами експериментів встановлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини розташовані в базальних і середніх відділах трубчатих залоз слизової оболонки шлунка та морфологічно представлені трьома типами клітин. Автором доведено, що найбільша кількість мелатонін-імунопозитивних клітин знаходиться переважно у фундальному відділі органа, а також що восени їх кількість нижча, ніж узимку, незалежно від статі. Десинхроноз, виразкове ураження шлунка та їх поєднання призводять до достовірного зменшення загальної кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах шлунка щурів різного віку та статі. Окремо дисертант вказує, що при пінеалектомії кількість мелатонін-продукуючих клітин не зменшується, як при попередніх станах, а, навпаки, збільшується, що, на думку автора, пов'язано із розвитком компенсаторної реакції з боку периферичного джерела синтезу мелатоніну при пошкодженні центрального.

У розділі 6 «Вплив десинхронозу та виразки шлунка на показники вільно-радикального окиснення та імунокомпетентні клітини крові» В.В. Гнатюк показала, що зменшення рівня мелатоніну при десинхронозі призводить до активації перекисного окиснення ліпідів та зниження активності ферментів антиоксидантної системи. Дисертантом встановлено, що десинхроноз і виразкове ураження шлунка має протилежно спрямований вплив на систему імунокомпетентних клітин: при десинхронозі, на тлі зменшення загальної кількості Т-лімфоцитів, субпопуляція Т-хелперів збільшувалася, а Т-супресорів – знижувалася, і навпаки, при виразковій хворобі кількість Т-хелперів знижувалася, а Т-супресорів – підвищувалася, що приводило до змін імуnoreгуляторного індексу.

Розділ 7 присвячений обґрунтуванню застосування екзогенного мелатоніну для профілактики та лікування гастральних виразок. Автором встановлено позитивний ефект від додавання до стандартної терапії омепразолом екзогенного мелатоніну на біохімічні показники крові та слизової оболонки шлунка, макроскопічний та гістологічний стан слизової оболонки шлунка.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» містить досить ґрунтовний аналіз матеріалу проведених досліджень, які дозволили

автору на основі одержаних результатів з'ясувати особливості участі епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і тестостерону в патогенезі виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку, обґрунтувати існування взаємозв'язку між гормонами, що досліджувалися, та запропонувати схему впливу мелатоніну на синтез тестостерону та навпаки.

Висновки дисертаційної роботи цілком обґрунтовані результатами власних досліджень, відповідають меті та завданням дослідження, за своїм змістом є цілком виваженими та значущими.

Список використаних джерел повною мірою відображає інформацію з обраного для дисертаційних досліджень наукового напрямку і свідчить про високу професійну ерудицію дисертанта.

#### **8. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.**

За темою дисертаційної роботи опубліковано 34 наукові роботи, у тому рахунку 21 стаття, з яких 3 статті – у виданнях, внесених до наукометричної бази SCOPUS, 14 статей – у наукових фахових виданнях України, які входять до переліку МОН України, 4 статті – у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, а також 13 тез у матеріалах конгресів та конференцій.

У публікаціях і авторефераті відображено всі основні положення дисертаційної роботи. Матеріали дисертаційної роботи Гнатюк В.В. пройшли апробацію на конгресі, конференціях та міжнародних форумах.

#### **9. Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.**

Автореферат дисертації за змістом і формою відповідає вимогам МОН України і містить усі основні положення дисертації.

#### **10. Матеріали для наукової дискусії. Питання, пропозиції та зауваження.**

Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу в цілому, слід зазначити деякі недоліки:

1. Частина результатів, що наведені у таблицях, повторюються у рисунках.
2. У «Списку використаних джерел» кількість праць латиницею представлена у невеликій кількості.
3. Робота містить поодинокі граматичні та стилістичні помилки.

Вказані зауваження носять рекомендаційний характер і не зменшують актуальності, наукової новизни, теоретичної і практичної цінності роботи. Вони є не принциповими.

При рецензуванні дисертації виникли наступні запитання дискусійного характеру:

1. Ви зробили підсумкову схему про вплив десинхронозу та виразкового ураження слизової оболонки шлунку на синтез і секрецію тестостерону і вважаєте, що підвищення секреції тестостерону пригнічує активність N-ацетилтрансферази, що призводить на кінцевому етапі до зниження рівня мелатоніну з формуванням порочного кола. Але ж Ви не

вивчали безпосередньо активність даного ферменту. Скажіть, будь ласка, чому Ви вважаєте, що підвищення секреції тестостерону призводить до пригнічення активності N-ацетилтрансферази та запускає порочне коло, наслідком якого є дефіцит мелатоніну?

2. На сьогоднішній день відомо, що мелатонін опосередковує свої ефекти переважно гуморальним шляхом. Однак для нього визначені й інші шляхи, зокрема нейрогуморальний, паракринний і аутокринний. Більшість дослідників не відокремлюють в загальному пулі концентрації мелатоніну в крові відсоток пінеального і екстрапінеального мелатоніну. Як Ви вважаєте, чи потрапляє мелатонін, що синтезується в травному тракті, в загальний кровоток, чи він чинить вплив на клітини лише паракринним шляхом?

3. Валеріє Валеріївно, я розумію, що для фундаментальних робіт не обов'язково наводити практичні рекомендації, але все ж таки, які практичні рекомендації Ви могли би надати після проведених Вами досліджень?

### **11. Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Гнатюк Валерії Валеріївни на тему: «Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках» є завершеною науково-дослідною працею, яка містить наукові положення та науково обґрунтовані результати проведених безпосередньо автором досліджень у медичній галузі науки, зокрема, в патофізіології, що розв'язують важливу наукову проблему, а саме: з'ясування особливостей синтезу епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну і обґрунтування його ролі в гормональних та імунних механізмах виразкової хвороби шлунку в щурів різної статі та віку.

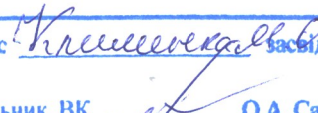
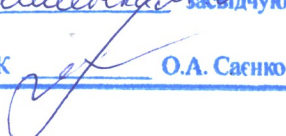
Таким чином, дисертація повністю відповідає вимогам, що висувуються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук [п. 10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, затвердженими Постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р.)], а її автор цілком заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

### **Офіційний опонент:**

доктор медичних наук, професор,  
проректор з науково-педагогічної роботи  
та питань розвитку, професор кафедри  
фізичної та медичної реабілітації  
Чорноморського національного університету  
імені Петра Могили МОН України



М.О. Клименко

Підпис  засвідчую  
Начальник ВК  О.А. Саєнко

