

ВІДЗИВ

офіційного опонента члена-кореспондента НАМН України,
Заслуженого діяча науки і техніки України,
доктора медичних наук, професора В. А. Міхньова
на дисертаційну роботу Гнатюк Валерії Валеріївни
«Циркануальні, вікові та статеві особливості синтезу епіфізарного та
екстрапінеального мелатоніну при гастральних виразках»,
подану до спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05
при Сумському державному університеті МОН України
для захисту на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук
за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

1. Актуальність теми дисертації.

Однією із важливих проблем теоретичної медицини є проблема порушення тих біологічних ритмів, що притаманні живим організмам на всіх рівнях їх організації. Біологічні ритми різних органів і систем мають узгоджуватися між собою і це є однією з ознак здорового організму. При порушенні такого узгодження виникає патологічний процес, який називається десинхронозом. Внутрішні біоритми залежать від тих періодичних процесів, що відбуваються в природному середовищі, і, перш за все, від періодичної зміни світлої і темної частини доби. Зараз відомо, що суттєва перебудова в діяльності організму в різні періоди доби залежить багато в чому від функціонування епіфізу, який, разом із сітківкою та ретиногіпоталамічним трактом, є основним ланцюгом фотоперіодичної регуляції біоритмів. Відомо також, що мелатонін - гормон епіфізу є тим посередником, що впливає на ендogenousні ритми організму і, таким чином, на добову і сезонну перебудову діяльності організму. І тому важливим є те, що дисертант в своїй роботі поставив за мету вивчити особливості утворення в організмі мелатоніну в різні періоди року в залежності від віку і статі тварин. Зміни секреції мелатоніну, що виходять за рамки фізіологічних коливань, можуть привести до змін нормальних біоритмів і розвитку різних патологічних станів, зокрема виразкової хвороби, яка відноситься до числа недуг, що часто зустрічаються серед захворювань шлунково-кишкового

тракту, а вибір адекватних схем її лікування – до числа найбільш актуальних проблем внутрішньої медицини. Етіологічно виразкова хвороба є мультифакторіальним захворюванням і мабуть тому є багато теорій, які намагаються розкрити патогенез цієї хвороби.

Останніми роками з'явився ще один погляд на механізми розвитку виразкової хвороби з позиції порушення біологічних ритмів. Провідна роль при цьому відводиться епіфізарному мелатоніну. Однак, окрім шишкоподібної залози, цей гормон синтезується клітинами дифузної нейроендокринної системи – екстрапінеальний мелатонін, кількість якого в шлунково-кишковому тракті в 400 разів перевищує кількість у епіфізі. При цьому, функції екстрапінеального мелатоніну в організмі та при виразковій хворобі досліджені недостатньо. Представлена наукова робота присвячена розв'язанню важливої наукової проблеми – участі епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в патогенезі гастральних виразок. Для цього автором було здійснено дослідження, спрямоване на з'ясування механізмів участі мелатоніну із різних джерел синтезу у розвитку гастральних виразок на підставі виявлення структурно-метаболічних і функціональних змін в організмі щурів, а саме: визначення в сироватці крові концентрацій мелатоніну і тестостерону в різні сезони року, при десинхронозі, виразковому ураженні шлунку та їх поєднанні; дослідження показників перекисного окиснення ліпідів, ферментів антиоксидантного захисту, особливостей стану імунокомпетентних клітин крові при десинхронозі і виразковому ураженні шлунку; проведено морфологічне вивчення мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка при різних патологічних станах; визначення коефіцієнтів кореляції між мелатоніном і тестостероном, що дозволило запропонувати нову схему участі мелатоніну в патогенезі виразкової хвороби та обґрунтувати її патогенетичну корекцію з використанням екзогенного мелатоніну. Все це вказує на безперечну актуальність дисертаційного дослідження.

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

Дисертація є самостійним фрагментом науково-дослідних тем «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 погоджено проблемною комісією МОЗ і НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» (протокол № 3 від 25 квітня 2013 р.) та затверджено і уточнено на засіданнях Вченої ради Національного фармацевтичного університету МОЗ України (протокол № 10 від 3 червня 2013 р. та протокол № 1 від 30 вересня 2016 р.).

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

Дисертантом уперше дано кількісну оцінку вмісту епіфізарного та екстрапініального мелатоніну, тестостерону у щурів самців і самиць різного віку та в різні сезони року, при гастральних виразках і десинхронозі.

Уперше проведено дослідження утворення епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну та тестостерону у щурів різного віку та статі з гастральними виразками на тлі десинхронозу та пінеалектомії і встановлено кореляційний зв'язок між утворенням тестостерону і мелатоніну, визначено напрямок та силу цього зв'язку.

Уперше за результатами імуногістохімічного дослідження мелатонін-імунопозитивних клітин слизової оболонки шлунку у щурів встановлено наявність трьох 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 рекомендацію щодо доцільності його застосування при комплексній терапії виразкової хвороби.

4. Теоретичне та практичне значення роботи.

Автором одержано нові дані, що поглиблюють уявлення про особливості сезонної секреції мелатоніну і тестостерону у щурів різного віку та статі. Досліджено та проаналізовано їх зміни при десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх поєднанні. Проведено дослідження взаємозв'язку між секрецією мелатоніну і тестостерону в нормі та при патології, запропонована схема взаємовпливу мелатоніну і тестостерону, що пояснює можливість ймовірної участі цих гормонів у патогенезі виразкової хвороби шлунка. Експериментальними дослідженнями підтверджено можливість застосування екзогенного мелатоніну у складі комбінованої терапії для лікування виразкової хвороби та профілактики її ускладнень.

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічну роботу на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Запорізького державного медичного університету, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Івано-Франківського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету, Національного фармацевтичного університету (м. Харків), Харківського національного медичного університету, Харківської медичної академії післядипломної освіти.

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

Дисертаційна робота Гнатюк Валерії Валеріївни виконана з використанням сучасних методів досліджень (морфометричних, гістологічних, біохімічних, імуноферментних, імуногістохімічних, статистичних) на достатній кількості тварин (552 щура). Положення і висновки, що представила дисертант, відповідають даним, які одержані експериментально, і логічно пов'язані з результатами досліджень. Методики

дослідження та експериментальні моделі, що були обрані та використовувалися, є сучасними і адекватними поставленим завданням. Статистичну обробку даних проведено в необхідному обсязі, що підтверджує вірогідність отриманих даних. Робота проведена методично правильно, всі серії досліджень мають необхідні групи контролю.

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

6. Структура та обсяг дисертації.

Дисертація Гнатюк В.В. побудована за стандартним зразком і за обсягом, формою і змістом відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора наук. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, 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), ілюстрований 81 рисунком та 22 таблицями.

Текст дисертації викладено грамотно, гарною літературною мовою. Назва роботи відповідає меті та основному змісту дисертаційного дослідження.

7. Характеристика розділів роботи.

У вступі автор викладає сучасний погляд на проблему виразкової хвороби, висвітлює сучасні відомості про мелатонін та його роль в організмі, обґрунтовує актуальність обраної теми, розкриває зв'язок з науковою програмою, формулює мету та задачі дослідження, наукову новизну та практичне значення роботи, особистий внесок у виконанні роботи, апробацію дисертації, наводить кількість публікацій за темою дисертаційної роботи.

Автор досить повно розкрив підстави та вихідні дані для розроблення теми, обґрунтував важливість та доцільність проведення досліджень за темою дисертаційної роботи.

Перший розділ дисертації присвячено аналізу існуючих досягнень з даної наукової проблеми. Складається з трьох підрозділів, у яких представлені сучасні погляди на етіологію і патогенез виразкової хвороби, роль мелатоніну у розвитку захворювань внутрішніх органів та його біологічні ефекти. Дисертант докладно проаналізував та підсумував наукові праці щодо відомостей про різні джерела синтезу мелатоніну, представив дані щодо ролі порушень біоритмів у розвитку виразкової хвороби, визначивши актуальність і проведення даного дослідження. Розділ написано чітко, логічно, в достатньому обсязі.

У 2-му розділі наведено матеріали і методи досліджень. Дисертант у вигляді таблиці представив розподіл тварин за серіями експериментів відповідно задачам дослідження, схематично надав усі етапи дослідження, умови утримання тварин та проведення експериментів, представив описання використаних методик, серед яких морфометричні, гістологічні, біохімічні, імуноферментні, імуногістохімічні. Використані моделі та методи дослідження відповідають сучасному методичному рівню наукових досліджень в патологічній фізіології. Коректно використано методи статистичного аналізу.

У 3-му розділі автор надає результати вивчення особливостей утворенню мелатоніну у щурів в залежності від віку та статі. Відповідно до результатів досліджень, дисертант говорить про існування циркануального ритму 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 весни та осені, та найбільшим вмістом мелатоніну в крові в літній і зимовий період. Найбільший рівень мелатоніну в крові як у самців, так і у самок у всі сезони 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. Показано, що при світловому десинхронозі відбувається достовірне зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів обох статей усіх вікових груп. Максимальне зниження рівня мелатоніну при десинхронозі виявлено у щурів-самців віком 9 міс та у самців і самок віком 20 міс відносно інтактного контролю. При виразковому ураженні шлунка рівень мелатоніну в сироватці крові у тварин усіх вікових груп знизився як у щурів-самців, так і щурів-самок. Поєднання виразкового ураження слизової оболонки шлунка з десинхронозом призводить до зниження вмісту мелатоніну в сироватці крові щурів усіх вікових груп, якщо порівнювати з інтактними тваринами, щурами з десинхронозом і тваринами з виразковим ураженням слизової оболонки шлунка.

Розділ 4 присвячений дослідженню статевих і вікових особливостей синтезу тестостерону у щурів, яке було проведено одночасно із визначенням мелатоніну. За результатами досліджень встановлено, що для тестостерону також притаманний циркануальний ритм секреції, але тільки для щурів-самців з високим вмістом гормону восени та низьким взимку в усіх вікових групах, що співпадало з періодом фізіологічного десинхронозу та дефіцитом мелатоніну. Світловий десинхроноз, виразкове ураження шлунка та їх поєднання призводить до достовірного підвищення концентрації тестостерону у щурів усіх вікових груп обох статей. Максимальний рівень гормону був визначений для самців віком 9 та 15 міс, що відповідає активному репродуктивному віку людини. З метою дослідження можливого зв'язку між секрецією мелатоніну і тестостерону дисертант розрахував коефіцієнти кореляції та проводить оцінку їх сили та напряму в нормі у різні сезони та при різних патологічних станах. Встановлено, що у різні сезони існує негативний зворотній зв'язок між рівнем мелатоніну і тестостерону у статевозрілих щурів-самців. При моделюванні патологічних станів негативний зворотній зв'язок посилюється у щурів-самців всіх вікових груп

та з'являється у щурів-самок різного віку. Особливу увагу автор приділяє збільшенню сили зв'язку від сильного до дуже сильного зворотного у щурів-самців віком 9 та 15 міс. На думку Гнатюк В.В., встановлення негативного зворотного кореляційного зв'язку між рівнями мелатоніну та тестостерону на тлі дефіциту мелатоніну при світловому десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх поєднанні у щурів-самців, особливо віком 9 та 15 міс, що відповідає віку людини 29–45 років, вказує на особливості взаємодії, що виникають в системі мелатонін-гіпофіз-гонади у щурів-самців цих вікових груп та може бути поясненням сезонних рецидивів та більш високої захворюваності на виразкову хворобу шлунка у чоловіків репродуктивного віку.

5-ий розділ автор присвячує морфологічному вивченню стану мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка, яке було проведено з використаннями гістологічного та імуногістохімічного методів дослідження. Встановлено, що мелатонін-позитивно-мічені клітини, які розташовані в базальних і середніх відділах трубчатих залоз слизової оболонки шлунка, морфологічно представлені трьома типами клітин, що розрізняються за розмірами та наявністю гранул. Дисертантом доведено, що у фундальному відділі шлунка кількість мелатонін-імунопозитивних клітин перевищує їх число у пілоричному. Визначено зміни в залежності від статі у кількості та співвідношенні різних типів мелатонін-продукуючих клітин восени та взимку з більш високим рівнем взимку. При світловому десинхронозі, виразковому ураженні шлунка та їх поєднанні відбувається достовірне зменшення загальної кількості мелатонін-позитивно-мічених клітин у різних відділах щурів різного віку та статі. Найбільше зниження загальної кількості клітин та значні зсуви у співвідношенні клітин різних типів при всіх патологічних станах визначено у самців віком 9 та 15 міс. При дослідженні кількості мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунка у щурів при пінеалектомії їх загальна кількість не зменшується, а навпаки збільшується і в фундальному, і в пілоричному відділах. Отриманий

результат автор пов'язує з розвитком компенсаторних механізмів у периферичному джерелі синтезу мелатоніну при видаленні центрального.

У розділі 6 дисертант досліджує зміни у системі перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту, особливості утворення імунокомпетентних клітин крові. Встановлено, що при десинхронозі відбувається активація вільнорадикальних процесів та розвиток оксидативного стресу на фоні виснаження антиоксидантної системи, що підтверджено підвищенням рівня дієнових кон'югатів, ТБК-реактивів, зниженням активності супероксиддисмутази та каталази крові.

Визначено, що і десинхроноз, і виразкове пошкодження шлунка та їх поєднання призводять до зниження кількості Т-лімфоцитів. Реакція субпопуляцій лімфоцитів при патологічних станах була різною: при десинхронозі кількість Т-хелперів збільшувалася одночасно із В-лімфоцитами, а кількість Т-супресорів – знижувалася. При виразці ці зміни мали протилежний напрямок.

Розділ 7 присвячений обґрунтуванню застосування екзогенного мелатоніну для профілактики та лікування гастральних виразок. Встановлено, що додавання до стандартної терапії омепрозолом екзогенного мелатоніну призводить до нормалізації біохімічних показників: збільшувався рівень загального білка крові, зменшувався рівень ТБК-реактивів та підвищувалася активність СОД в слизовій оболонці шлунка, зменшувалася активності АсАТ, АлАТ в сироватці крові порівняно з контрольною патологією. Використання екзогенного мелатоніну при лікуванні гастральних виразок призвело до покращення показників противиразкової активності – зменшенню противиразкового індексу та підвищенню проценту противиразкової активності; сприяло нормалізації макроскопічного стану слизової оболонки шлунка – зменшенню глибини ураження, набряку, гіперемії, сприяло утворенню слизу і нормалізації місцевого кровообігу. Одночасно збільшувалася загальна кількість мелатонін-продукуючих клітин слизової оболонки шлунку, наближаючись до рівня у інтактних тварин.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автор надає ґрунтовний аналіз матеріалу проведених досліджень з висновками щодо участі епіфізарного та екстрапінеального мелатоніну в патогенезі виразкової хвороби шлунка у щурів різної статі та віку, обґрунтовує існування взаємозв'язку між мелатоніном і тестостероном та пропонує схему взаємовпливу мелатоніну на синтезу тестостерону та навпаки, що може бути поясненням особливостей патогенезу виразкової хвороби у чоловіків репродуктивного віку.

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

Список використаних джерел достатньо 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, зокрема 21 стаття (згідно з переліком МОН України), з яких 3 статті – у виданнях, внесених до наукометричної бази SCOPUS, 14 статей – у наукових фахових виданнях України, 4 статті – у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, 13 тез – у матеріалах конференцій, конгресів.

У публікаціях 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 ряд

зауважень та побажань:

- Дисертант в роботі широко використовує слово синтез (мелатоніну, тестостерону). Але краще говорити про утворення цих речовин, бо синтез означає утворення складних речовин з більш простих і передбачає розкриття молекулярних механізмів.

- Чи вважає дисертант тотожними поняття «виразкова хвороба» і «пептична виразка»?

- Чи відомо, яка частка мелатоніну в сироватці крові припадає на пінеальні, а яка на екстрапінеальні?

- Яким чином регулюється утворення і секреція екстрапінеального мелатоніну?

- Як автор розуміє такі поняття як «оксидативний стрес», «окиснювальний гомеостаз»?

- Описуючи методику видалення епіфізу, автор не зовсім вдало називає її моделлю пінеалектомії, бо не може бути пінеалектомія моделлю пінеалектомії. Можна говорити тільки про моделювання недостатності епіфізу.

- Чи відомі автору молекулярні механізми дії мелатоніну на клітини різних органів, зокрема на їх ферментні системи?

Зазначені зауваження носять рекомендаційний характер і не зменшують актуальності, наукової новизни, теоретичної і практичної цінності роботи.

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 самостійною завершеною науково-дослідною працею, яка містить принципово нові науково обґрунтовані одержані автором результати, за своєю актуальністю,


змістом, обсягом досліджень, науковим та практичним значенням робота відповідає вимогам п.10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., (зі змінами, затвердженими Постановою Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 р.), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

член-кореспондент НАМН України,
Заслужений діяч науки і техніки України,
Головний учений секретар НАМН України,
професор кафедри патологічної фізіології
Національного медичного університету ім.
О.О.Богомольця, доктор медичних наук, професор

 В.А. Міхньов

Підпис Міхньова В.А. засвідчую


ВІДДІЛ
КОНТРОЛЮ
ВИКОНАННЯ ТА
ДІЛОВОСТВА

Курська Оксана
Курська Оксана