

ВІДГУК
офіційного опонента
на дисертаційну роботу МАКАРЧУК ВІКТОРІЇ АНАТОЛІЇВНИ
„ ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОЗПОДІЛУ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ
ЦЕНТРАЛЬНОЇ ТА ПЕРИФЕРИЧНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ПАНКРЕАТИТІ ”,
що подана до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
біологічних наук за спеціальністю
(03.00.04 – біохімія).

Дисертаційна робота Макарчук Вікторії Анатоліївни присвячена дослідженню розподілу нейроспецифічних білків у різних відділах головного мозку та підшлункової залози за умов енцефалопатії, що виникає внаслідок тривалої оклюзії панкреатичної протоки.

Останнім часом увага дослідників прикута до розшифровки молекулярних механізмів, причетних до розвитку нейродегенеративних захворювань різного генезу, в тому числі й таких, що пов'язані з метаболічними порушеннями в інших органах та тканинах. Широко відомі печінкова, уремічна та токсичні енцефалопатії, але досліджень стосовно виникнення порушень діяльності нервової системи внаслідок хронічного панкреатиту відносно мало. Між тим значний приріст поширеності цього захворювання серед населення та підвищення частоти його ускладнень негативно впливає на якість життя і ставить задачу покращання методів лікування та моніторингу можливих порушень нервової системи. В цьому відношенні дисертаційна робота Макарчук В.А. є актуальною за метою та новою за напрямком досліджень.

Дисертаційна робота Макарчук Вікторії Анатоліївни викладена на 168 сторінках друкованого тексту й складається із вступу, огляду літератури (3 підрозділи), експериментальної частини, до якої входять розділи „Об'єкти і методи досліджень” (9 підрозділів), „Результати досліджень” (13 підрозділів),

„Узагальнення отриманих результатів”, висновків та списку використаних літературних джерел (218 посилань). Робота містить 48 рисунків і 2 таблиці.

Розпочинається робота оглядом літератури по темі дисертації, в якому проведений детальний аналіз наявних в літературі даних по обраному напрямку досліджень та їх узагальненню. Закінчується цей розділ обґрунтуванням мети дисертаційної роботи, що виконувалась автором.

У другому розділі дисертації наведені використані в роботі матеріали та методи досліджень, які цілком відповідають поставленим задачам. Зокрема, це опис моделі хронічного панкреатиту у щурів, визначення показників, що характеризують ступінь ураження підшлункової залози та відповідну реакцію організму, а саме - активності ферментів, що синтезуються в цьому органі, показників ліпідного, білкового та вуглеводного обміну, показників ендогенної інтоксикації, ПОЛ, стану системи антиоксидантного захисту, показників фіброзу та ін. Для оцінки нейроспецифічних білків дисертантом були використані методи імуноферментного аналізу, а для визначення гіалуронат-зв'язуючої активності - вуглевод-ферментний аналіз. Слід відзначити, що всі використані у дисертаційній роботі методичні підходи описані досить ретельно.

У третьому розділі роботи автор викладає отримані результати. Привертає увагу великий за об'ємом експериментальний матеріал, представлений Вікторією Анатоліївною у двох підрозділах цієї глави. Більша частина наведених у першому підрозділі результатів присв'ячена доказу ураження панкреатичної залози та наступних метаболічних порушень після 6-денної (короткочасної) та 30-денної (тривалої) хірургічної оклюзії панкреатичної протоки. Було продемонстровано, що за умов хронічного панкреатиту у щурів порушується її екзокринна функція, свідченням чого є збільшення активності панкреатичних ферментів у крові, при чому, найбільш значні зміни спостерігаються за умов короткочасної оклюзії. Навпаки, найбільш виражені метаболічні зсуви розвиваються при тривалій оклюзії:

підвищується на 55% рівень тригліцеридів, на 27%- рівень холестеролу, на 69% - рівень глюкози. Ці зміни відбуваються на тлі зменшення ТБК-активних продуктів, тіол-дисульфідного співвідношення, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та інших показників антиоксидантного захисту. Цікаві результати отримано при дослідженні молекул середньої маси, які автор вважає показником ендогенної інтоксикації організму. Характерно, що зміни рівня різних за спектром поглинання та походження МСМ мають однакові тенденції: значне підвищення на 6-у добу з подальшим зниженням на 15-у та 30-у добу спостереження. Підсумовуючи отримані в цьому підрозділі результати, Вікторія Анатоліївна наголошує на тому, що виражений хронічний панкреатит з фіброзуванням тканини і розвитком панкреатичної енцефалопатії має місце лише після 30-денної оклюзії панкреатичної протоки, а тому для дослідження нейроспецифічних білків була обрана група тварин, що підлягала тривалій оклюзії.

Дуже цікаві результати отримано при дослідженні розподілу нейроспецифічних білків (НМКА, ГФКП, S-100) та гіалуронатзв'язуючих білків у різних відділах головного мозку та у підшлунковій залозі щурів з доведеним за попередніми даними фіброзом тканини підшлункової залози. Встановлено різноспрямований характер змін розчинної та мембранозв'язаної форм НМКА, а також розчинної і філаментної форм ГФКП у мозочку та гіпокампі на тлі збільшення S-100 у всіх досліджуваних відділах головного мозку. Якщо вміст розчинних форм НМКА та ГФКП у мозочку збільшується, то їхня мембранна та філаментна форми, навпаки, зменшуються. Аналогічна тенденція виявлена й у тканині підшлункової залози: на тлі зростання S-100 підвищується вміст мНМКА та фГФКП. На думку автора, це пов'язано з інтоксикацією мозку та змінами метаболізму означених білків при хронічному панкреатиті.

Важливим результатом проведених досліджень є встановлення перерозподілу афінності до гіалуронату між різними відділами мозку та клітинними компартментами. Так, гіалуронат-зв'язуюча активність

мембранних білків зростає у гіпокампі і знижується у мозочку та таламусі. У підшлунковій залозі гіалуронат-зв'язуюча активність зростає у відповідь на підвищення гіалуронату внаслідок фіброзування тканини при хронічному панкреатиті.

Слід зауважити, що одержаний експериментальний матеріал добре та послідовно викладений, статистично грамотно проаналізований.

У розділі “Узагальнення отриманих результатів” Вікторія Анатоліївна детально аналізує одержані нею результати наукових досліджень та робить відповідні узагальнення.

Вікторія Анатоліївна вперше продемонструвала взаємозв'язок між рівнем ендогенної інтоксикації і рівнем гіалуронатзв'язуючої активності цитоскелетної/мембранної фракції білків із мозочку, а також поведінковою реакцією експериментальних щурів. В роботі виявлена кореляція між змінами розподілу нервово специфічних білків у мозку та ступенем ураження панкреатичної залози і розроблено схему причинно-наслідкових зв'язків.

Наукові положення, висновки та рекомендації, що сформульовані в дисертації, викладені в опублікованих працях у повному обсязі: дисертантка є співавтором 18 наукових праць, з них 7 статей у фахових виданнях (6 – у наукових періодичних виданнях України і 1 – у зарубіжному виданні, включеному до міжнародних наукометричних баз), та 11 тез доповідей у матеріалах міжнародних та вітчизняних наукових з'їздів і конференцій.

Оформлення дисертації відповідає прийнятим вимогам до кандидатських дисертацій, а зміст автореферату є ідентичним основним положенням дисертаційної роботи. Всі експериментальні дані, які наведені у дисертації, досить ретельно та критично проаналізовані, мають необхідну статистичну обробку і є достовірними. Принципових зауважень щодо дисертаційної роботи немає, але слід відзначити не зовсім пропорційний розподіл експериментального матеріалу. Метою роботи дисертант вважає визначення особливостей розподілу нейроспецифічних білків та гіалуронат-

зв'язуючої активності за умов експериментального хронічного панкреатиту, але лише третина матеріалу, наведеного в розділі «Результати досліджень», стосується саме нейроспецифічних білків, а дві третини – доказам наявності панкреатиту, ендогенної інтоксикації та біохімічним змінам. На мій погляд, цю частину можна було скоротити й не повторювати деякі дослідження, що проведені в інших лабораторіях. Крім того, якщо в меті роботи заявлено про необхідність дослідження гіалуронат-зв'язуючої активності білків міжклітинного матриксу, то слід було внести це в назву роботи.

Крім цього, хотілося б відмітити деякі моменти, що, на мій погляд, потребують більш детального висвітлення. Зокрема, хотілося почути думку Вікторії Олексіївни стосовно наступного.

1) У висновках стверджується, що при хронічному панкреатиті збільшується кількість ТБК-активних продуктів та зменшується активність ферментів антиоксидантної системи, але за наведеними в роботі результатами на 30 добу спостереження має місце зменшення цих показників в обох групах піддослідних щурів. Чим автор пояснює це протиріччя? Чи є це адаптивною реакцією, чи це наслідок фіброзування підшлункової залози?

2) Що таке деполімерізація ГФКП? Який механізм цього процесу?

3) Незрозуміло, чому різноспрямовані зміни нейроспецифічних білків у різних відділах мозку розглядаються як доказ пластичності нервової системи за умов хронічного панкреатиту, а зміни тих самих білків у екстрактах підшлункової залози – як доказ порушення інервації цього органу? Чи є інші докази цього?

Однак, зауваження та запитання, які виникли, не впливають на загальну високу оцінку роботи. Дисертанту вдалося повністю виконати усі завдання для досягнення поставленої мети. У науково-теоретичному відношенні результати, що були одержані Вікторією Олексіївною розширюють сучасні уявлення щодо біохімічних механізмів виникнення панкреатичної енцефалопатії, порушення метаболічних процесів у нервовій тканині за умов

хронічного панкреатиту. У практичному аспекті отримані результати можуть бути використані для моніторингу хворих на хронічний панкреатит з метою своєчасної діагностики енцефалопатії та визначення фіброзних змін в підшлунковій залозі, про що отримано патент України № 90510.

Вважаю, що дисертаційна робота Макарчук Вікторії Анатоліївни за актуальністю проблеми, науковою новизною отриманих результатів, можливістю практичного їх використання, коректністю та достовірністю зроблених висновків відповідає вимогам пп. 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, а її автор Макарчук Вікторія Анатоліївна заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент,
професор кафедри біохімії,
медичної та фармацевтичної хімії
ДЗ “Дніпропетровська медична
академія МОЗ України”,
доктор біологічних наук, професор

Шевцова А.І.