

## Відгук

### на дисертаційну роботу

#### **Макарчук Вікторії Анатоліївни „Особливості розподілу нейроспецифічних білків центральної та периферичної нервової системи при експериментальному хронічному панкреатиті”**

що представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія.

**Актуальність теми.** Дослідження механізмів розвитку гострого та хронічного панкреатиту є одним з провідних питань сучасної експериментальної та клінічної гастроентерології. Панкреатит супроводжується як морфологічними змінами тканини підшлункової залози, так і порушеннями секреторної та гормонпродукуючої функцій, а також розвитком ендогенної інтоксикації, що є фактором порушення функціонування нейронів різних відділів мозку. У зв'язку з цим, дослідження розподілу нейроспецифічних білків (нейрональної молекули клітинної адгезії, астрогліального  $Ca^{2+}$ -зв'язуючого білка S-100b та гліального фібрилярного кислого протеїну) та гіалуронат-зв'язуючої активності білків міжклітинного матриксу при енцефалопатії у щурів з панкреатитом є актуальним питанням сьогодення.

Робота Макарчук В. "Особливості розподілу нейроспецифічних білків центральної та периферичної нервової системи при експериментальному хронічному панкреатиті" є складовою частиною науково-дослідної роботи ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України" "Вивчити механізми розвитку фібротичних процесів при хронічному панкреатиті та удосконалити технології їх хірургічної корекції" (номер державної реєстрації 0111U001065) та планової науково-дослідної роботи Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара в рамках держбюджетної теми "Використання природних антиоксидантів та продуктів нанотехнологій в якості нейропротекторів за умов несприятливого впливу навколишнього середовища та метаболічних порушень" (номер державної реєстрації 0113U003041).

## **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій.**

Наукові положення, висновки та рекомендації, що сформульовані автором у дисертації базуються на сучасному науковому методологічному підході при проведенні досліджень та результатах, які були отримані на 54 щурах. Дослідження були проведені згідно прийнятих етичних норм роботи з експериментальними тваринами. Автором на основі апробованих та застосованих моделей гострого та хронічного панкреатиту були отримані нові результати, що статистично оброблені, і на основі яких сформульовані та обґрунтовані наукові положення, висновки та рекомендації.

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, розділу власних досліджень, узагальнення отриманих результатів, висновків, списку літератури, що містить 218 літературних джерел (77 кирилицею та 141 латиницею). Робота викладена на 168 сторінках, з яких основний текст займає 135 сторінок, та проілюстрована 48 рисунками і 2 таблицями.

В огляді літератури проаналізований сучасні механізми патогенезу хронічного панкреатиту. Відзначені умови за яких розвивається енцефалопатія при порушенні функцій підшлункової залози. Особливе місце в літературному огляді займає опис значення нейроспецифічних білків та гіалуронат-зв'язуючої активності білків міжклітинного матриксу за умов хронічного панкреатиту та ендотоксемії. Наведений у огляді літератури матеріал представлений вдало та логічно, про що свідчить послідовність його викладення та опрацювання значної кількості літературних джерел.

У другому розділі представлена характеристика об'єктів дослідження і використаних автором методичних підходів і конкретних методик – морфологічних, біохімічних, фізіологічних, статистичних, які є обґрунтованими та сучасними, що свідчить про ґрунтовний підхід до проблеми і дозволяє об'єктивно та комплексно оцінити досліджувані процеси у підшлунковій залозі та мозку.

У розділі 3 представлені результати власних експериментальних досліджень автора.

Зокрема показані зміни активності ензимів  $\alpha$ -амілази, ліпази, трипсину, та вмісту холестеролу, тригліцеридів, глюкози, ТБК-активних продуктів у крові на 6, 15 та 30 добу експериментального панкреатиту.

Для оцінки ендогенної інтоксикації у крові визначали вміст молекул середньої маси - МСМ-230, МСМ-254, МСМ-280. Отримані дані проаналізовані у результаті чого відзначено, що всі фракції МСМ за умов експериментального панкреатиту зростали у найбільшій мірі на 6 добу. Окрім цього, автором відзначено підвищення вмісту зв'язаного оксипроліну та гіалуронової кислоти за умов хронічного панкреатиту, що трактується як розвиток фіброзу підшлункової залози.

Зміни показників процесів ліпопероксидації та активності ензимів антиоксидантного захисту у крові та еритроцитах за умов експериментального панкреатиту відповідають даним літератури.

Значна увага приділена автором морфологічним дослідженням у підшлунковій залозі, які виконані з використанням різних барвників і проведений морфометричний аналіз фіброзних змін, що обґрунтовує висловлені положення та висновки пов'язані з розвитком фіброзу у підшлунковій залозі за умов хронічного панкреатиту.

Значне місце у роботі займають дослідження по визначенню розподілу нейрональної молекули клітинної адгезії, вмісту астрогліальних білків та гіалуронат-зв'язуючої активності білків у головному мозку та підшлунковій залозі за умов розвитку хронічного панкреатиту.

Розділ 4 присвячений обговоренню отриманих даних, їх співставленню з точкою зору інших науковців. Автором представлена загальна схема змін нейрон- та астроцит-специфічних білків за умов панкреатичної енцефалопатії. Подання матеріалу в цьому розділі свідчить про високу ерудованість та глибоке розуміння досліджуваної проблеми автором.

Отже, отмані результати обґрунтовують сформульовані наукові положення та висновки.

### **Достовірність і новизна наукових положень, висновків і рекомендацій.**

Автором на основі сучасних методів дослідження, проведених на достатній кількості щурів, отримані нові дані, які визначають особливості розподілу нейрональної молекули клітинної адгезії, білка S-100b, гліального фібрилярного кислого протеїну та загальної гіалуронат-зв'язуючої активності білків у різних відділах мозку та підшлункової залози щурів за умов панкреатичної енцефалопатії. При цьому показано підвищенням рівня білка S-100b в гіпокампі, таламусі, що призвело до зниження вмісту філаментної форми гліального фібрилярного кислого протеїну у мозочку, в гіпокампі та у таламусі.

Автором отримані нові дані щодо різноспрямованих змін вмісту мембранної фракції нейрональної молекули клітинної адгезії – відзначено зниження її у мозочку та підвищення в таламусі за умов експериментального панкреатиту. Показано зниження гіалуронат-зв'язуючої активності мембранних білків у мозочку і у таламусі та зростання у гіпокампі. При розвитку хронічного панкреатиту в екстракті з підшлункової залози встановлено підвищення рівня S-100b, зниження розчинного гліального фібрилярного кислого протеїна та підвищення гіалуронат-зв'язуючої активності мембранних білків.

Доповнені існуючі погляди щодо змін процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту, маркерів фіброзу у крові та еритроцитах за умов експериментального панкреатиту.

За результатами роботи автором сформульовано 5 висновків, які є конкретними та впливають з отриманих результатів.

Наукові положення, висновки та рекомендації достовірні та обґрунтовані, що базується на сучасних методах досліджень, аналізі результатів, їх статистичній обробці та висвітленні у науковій пресі та представленні на чисельних наукових форумах.

Автором опубліковано 18 робіт, серед яких 7 статей (6 – у наукових фахових виданнях, 1 – у зарубіжному виданні) та 10 тез доповідей у матеріалах

наукових з'їздів, вітчизняних та міжнародних конференцій, а також отриманий патент на корисну модель.

**Запитання та зауваження.** Аналізуючи роботу виникли наступні зауваження:

1. У тексті зустрічаються не коректні вислови. Так, наприклад, описуючи зміни концентрації ліпідів (тригліцериди, холестерол) у крові за умов експериментального панкреатиту, автор говорить про транспорт ліпідів, що є не тотожне. При морфологічному описанні зустрічаються наступні терміни - "атрофія ацинарних клітин" – чи це стадія апоптозу, чи зниження функціональної активності, чи початок некрозу?

2. Автором проведено визначення біохімічних параметрів у крові та еритроцитах, тоді як морфологічно були оцінені зміни підшлункової залози. Для співставлення морфологічних та біохімічних змін бажано було б визначати біохімічні показники також у тканині підшлункової залози.

3. У огляд літератури бажано було б включити більше робіт по вивченню підшлункової залози як експериментальних, так і клінічних, українських вчених.

4. Розділ "Узагальнення отриманих результатів" треба було завершити заключенням яке б визначало значення отриманих результатів для теорії та практики.

Запитання:

1. Чим було обумовлено проведення визначення у еритроцитах вмісту тіолових груп, рівня дисульфідних зв'язків, вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази та наскільки змінюється кисеньтранспортуюча функція еритроцитів за умов експериментального панкреатиту?

2. Оцінку ендогенної інтоксикації за умов експериментального панкреатиту визначали за вмістом у крові молекул середньої маси. Наскільки даний показник є на сьогоднішній день критерієм розвитку енцефалопатії, враховуючи те, що хронічний панкреатит супроводжуються зростанням вмісту

у крові цитокінів, у ендотелії судин та тканині мозку активності прозапальних ензимів (циклооксиганаза, NO-синтаза) та інших маркерних білків запалення?

3. Як було враховане те, що за умов експериментального панкреатиту різко буде зростати зворотня аферентація по блукаючому нерву, а також ноцицептивна імпульсація, внаслідок чого змінюється активність нейронів різних відділів ЦНС і, що може впливати на розподіл нейрональної молекули клітинної адгезії, білка S-100b та гіалуронат-зв'язуючої активності білків міжклітинного матриксу у мозочку, гіпокампі та таламусі?

4. На рис. 1.5 у огляді літератури відзначено, що білок S-100b може впливати на (активність, експресію) ЦОГ-2 та iNOS клітин мікроглії та астроцитів. На ціж прозапальні ензими (ендотеліоцитів, нейронів) діють чисельні біологічно активні речовини, що виділяються у кров за умов розвитку хронічного панкреатиту. Чи не буде ефект дії простагландинів та токсичних продуктів нітрогену оксиду домінуючим у змінах розподілу нейрональної молекули клітинної адгезії, астрогліальних білків та активності гіалуронат-зв'язуючих білків у досліджуваних частинах мозку?

Зазначені зауваження та запитання жодною мірою не применшують загальних достоїнств дисертаційної роботи.

### **Відповідність дисертації вимогам ДАК України**

Дисертаційна робота Макарчук Вікторії Анатоліївни „Особливості розподілу нейроспецифічних білків центральної та периферичної нервової системи при експериментальному хронічному панкреатиті”, є завершеною самостійною науковою працею, в якій отримано нові науково-обґрунтовані результати, що вирішують актуальне для біохімії наукове завдання та відповідає п. 10.1 «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, щодо кандидатських дисертацій, її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності

03.00.04 – біохімія, за визначення розподілу нейроспецифічних білків та гіалуронат-зв'язуючої активності білків міжклітинного матриксу при енцефалопатії у щурів з панкреатитом.

Завідувач кафедри біологічної хімії  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

О.Я. Склярів

Підпис проф. Склярів О. Я. засвідчую  
Вчений секретар Львівського національного  
медичного університету імені Данила Галицького  
д.мед.н., професор

О.Б. Надрага