

В І Д З И В

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Гороховського Є.Ю. "Роль іонів Zn^{2+} у функціональних змінах слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки за дії диклофенаку", подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Актуальність теми

Серед важких для діагностики хворіб травної системи відносять запальні процеси у тонкій кишці. Як свідчать дані літератури захворюваність на запальну хворобу кишки останнім часом у Україні та країнах Європи зростає. До факторів що викликають розвиток запальних процесів відносять дію різних ксенобіотиків та алергенів, що знаходяться у їжі, порушення функціонування фізіологічних процесів - зниження кислотопродукції та моторики, вплив різних фармакологічних препаратів, серед яких провідну роль відіграють нестероїдні протизапальні препарати - інгібітори циклооксигенази. Широке неконтрольоване застосування різних за механізмом дії нестероїдних протизапальних препаратів викликає у пацієнтів гальмування синтезу протизапальних простагландинів, внаслідок чого виникають структурно-геморагічні ушкодження слизових оболонок шлунка та тонкої кишки.

Недостатньо вивченим на сьогоднішній день залишається питання участі іонів Zn^{2+} у цитопротекторних процесах слизової оболонки тонкої кишки. Володіючи широким спектром дії іони Zn^{2+} також приймають участь у підтримці бар'єрної функції тонкої кишки. Однак, за участі яких механізмів реалізується ефект впливу іонів Zn^{2+} досліджено недостатньо, що і обґрунтовує актуальність проведення дослідження.

Дисертація виконана в відповідно до плану науково-дослідних робіт Запорізького національного університету та є фрагментами держбюджетної теми "Розробка засобів визначення за допомогою хелаторів-хромофорів дії стресових факторів з антропогенним навантаженням на організм людини і тварин" (номер державної реєстрації 0112U003067).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Наукові положення, висновки та рекомендації, що сформульовані автором у дисертації базуються на сучасному методологічному підході до проведення досліджень та результатах отриманих на 300 щурах. Дослідження проведені згідно прийнятих етичних норм. Автором на основі апробації декількох моделей була обґрунтована доцільність використання неселективного блокатора циклооксигенази - диклофенаку, як оптимального фактора, дія якого викликала деструктивні порушення слизового бар'єра тонкої кишки.

Автором були проведені дослідження по визначенню ролі іони Zn^{2+} за умов дії диклофенаку на стан слизової оболонки тонкої кишки та крові, вплив іонів Zn^{2+} на стан мікрофлори тонкої кишки, процеси ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантного захисту, секреторну функції клітин Панета. Вплив іони Zn^{2+} моделювали застосовуючи його трансмембранний транспорт за участю іонофору цинку - диетилдитіокарбамату у двох дозах- 400 мг/кг та 1000 мг/кг. Кількість використаних тварин при проведенні досліджень є достатньою. Отримані результати та висновки базуються на використанні сучасних методів дослідження та класичних методологічних підходах, оброблені статистично згідно прийнятих норм.

Отже, наукові положення, висновки та рекомендації є обґрунтованими та ґрунтуються на достатній кількості проведених визначень, їх аналізі та статистичній обробці.

Стосовно структури дисертації, то рукопис побудований згідно сучасних вимог і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, двох розділів власних досліджень, узагальнення результатів, висновків, списку літератури, що містить 351 літературних джерел (46 кирилицею та 305 латиницею). Робота проілюстрована 13 рисунками, 20 таблицями, 20 фотографіями.

У вступі дисертант наводить відомості щодо епітеліального бар'єру кишки та його антибактеріальній функції, аналізує роль кишкової бактеріальної мікрофлори, оцінює вплив нестероїдних протизапальних препаратів як

факторів ризику запального процесу у кишці, характеризує участь іонів Zn^{2+} у регуляторних процесах ряду органів. Огляд літературний написаний з використанням значної кількості новітніх публікацій, є змістовним та представлений аналітично та логічно. Завершується огляд літератури коротким підсумком.

В розділі "Матеріали та методи досліджень" дисертант описує та характеризує методичний підхід, матеріали та застосовані методики при проведенні досліджень. Матеріалом слугували тканина слизової оболонки тонкої кишки, печінка та кров щурів. В роботі використаний широкий спектр фізіологічних, цитохімічних, біохімічних, морфологічних та мікробіологічних методи досліджень, які є відтворюваними та адекватними до поставлених задач. Оригінальними є розроблені автором та захищені патентами методи, які дозволяють проводити дослідження антимікробних катіонних білків у секреторних гранулах клітин Панетта та гістобактеріоскопічного дослідження кишки.

Розділ 3 присвячений визначенню оптимальної моделі альтерації слизової оболонки тонкої кишки для дослідження ролі іонів Zn^{2+} у регуляції її стану за умов запалення. Автор навів результати дії різних ульцерогенних факторів — індометацину, хлоридів ртуті та кадмію, лінкоміцину, ампіциліну та метотрексату на стан слизової оболонки та клітини Панета тонкої кишки. Представлені результати свідчать про те, що найбільш оптимальною моделлю для відтворення деструктивних ушкоджень слизової оболонки тонкої кишки є застосування блокаторів циклооксигенази.

В розділі 4 наведені дані щодо впливу модулювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} на тлі блокування циклооксигенази на вміст цинку у тканині клубової кишки, печінці та сироватці крові. Показані зміни мікрофлори тонкої кишки, стану епітеліального бар'єру, стан процесів ліпопероксидації та активність системи антиоксидантного захисту та секреторна активність клітин Панета за умов модулювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} на тлі блокування циклооксигенази. Отримані результати описані, наведені у таблицях, рисунках мікрофотографіях та опрацьовані статистично.

У розділі 5 автором проведено узагальнення отриманих результатів дослідження. Автор критично розглядає отримані дані, проводить їх порівняння з даними літератури. Важливим доробком автора є подання власного погляду на роль цинку в регуляції запальних процесів у тонкій кишці, що представлено у вигляді схеми.

Достовірність і новизна наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях.

Автором отримані нові цікаві дані, які свідчать про участь іонів Zn^{2+} у регуляції функціональних змін слизової оболонки тонкої кишки за умов блокування циклооксигенази та моделювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} на тлі блокування синтезу ендогенних простагландинів.

Вперше встановлено, що зростання концентрації іонів цинку на тлі блокування циклооксигенази призводить до зростання деструктивних ушкоджень слизової оболонки тонкої кишки. Автором показано, що зміни вмісту іонів Zn^{2+} на тлі порушення слизового бар'єру дистальної частини тонкої кишки призводить до зміни мікробіоценозу та є чинником розвитку запального процесу. Автором відзначено зменшення вмісту іонів Zn^{2+} та катіонних білків у секреторних гранулах клітин Панета за умов модулювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} .

Автором постульовано те, що за умов запалення відбувається перерозподіл іонів пулу лабільного цинку організмі – зростає його вміст у паренхімі печінки та знижується у сироватці крові та клітинах слизової оболонки тонкої кишки.

Отримані результати сформульовані у вигляді наукових положень, висновків та рекомендацій є достатньо обґрунтованими, достовірними та опубліковані у достатній кількості наукових праць.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях

Результати досліджень опубліковані у 12 друкованих працях, у тому числі 6 статтях, серед яких 2 статті у виданнях, які входять до наукометричних баз даних, 4 тезах та отримано 2 патенти на корисну модель, що свідчать про

повноту викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Зауваження та запитання щодо змісту дисертації та автореферату.

Зауваження:

1. На рис. 3 у авторефераті не чітко представлені дані щодо площі виразкових ушкоджень тонкої кишки за умов блокування циклооксигенази.
2. До списку літератури включено 351 посилання, серед них 46 кирилицею. До списку треба було б додати праці вчених з провідних лабораторій України - Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Львівського національного медичного університету тощо.
3. У тексті зустрічаються невдалі вирази, русизми та терміни.

Запитання:

1. Чим Ви пояснюєте зниження активності супероксиддисмутази за умов моделювання трансмембранного транспорту іонів Zn^{2+} на першу добу та підвищення її активності протягом наступних семи діб?
2. Як Ви пояснюєте те, що на сьому добу експерименту активність одного з провідних маркерів запалення мієлопероксидази та вміст нітритів при дії диетилдитіокарбамату у дозі 1000 мг/кг на тлі блокування циклооксигенази різко зросли, тоді як площа уражень слизової оболонки, активність супероксиддисмутази, каталази та загальна відновлювальна активність у слизовій оболонці тонкої кишки зменшувались, у порівнянні з першою добою?
3. Розглядаючи зміни вмісту цинку та динаміку показників площі виразкових ушкоджень у слизовій оболонці тонкої кишки видно, що відновлення вмісту цинку в першу чергу залежить від відновлення цілісності слизової оболонки тонкої кишки. За яким механізмом моделювання вмісту цинку впливає на регенераційні процеси клітин слизової оболонки тонкої кишки?

4. З точки зору практичної медицини, які екзогенні речовини з достатньо високими концентраціями цинку можуть потрапляти в організм людини і викликати подібний вплив?

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

Відповідність дисертації вимогам ВАК України. Дисертаційна робота Гороховського Є.Ю. "Роль іонів Zn^{2+} у функціональних змінах слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки за дії диклофенаку", є завершеною самостійною науковою працею, в якій отримано нові науково-обґрунтовані результати, що вирішують актуальне для фізіології 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 03.00.13 – фізіологія людини і тварин, за визначення ролі іонів Zn^{2+} у регуляції функціонального стану епітеліального бар'єру за слизової оболонки дистального відділу тонкої кишки за умов блокування циклооксигенази.

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

