ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Гопаненко Ольги Орестівни «Пероксидні процеси та ліпідний склад плазми крові, печінки й скелетних м'язів кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та його корекції», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Актуальність теми дисертації.

Впродовж останніх років спостерігається тенденція до збільшення рівня захворюваності на гострий панкреатит, а також частіше виявляються ускладнення цього захворювання. Наявні дані про те, що на сьогодні гострий панкреатит посідає третє місце серед захворювань органів черевної порожнини, поступаючись лише гострому апендициту й гострому холециститу, а кількість хворих на гострий панкреатит у європейських країна та США досягає 15–20 осіб на 100 000 населення.

Незважаючи на прогрес, досягнутий за останні роки у діагностиці, консервативному та хірургічному лікуванні гострого панкреатиту, це захворювання залишається потенційною загрозою розвитку ускладнень (таких як кіста підшлункової залози, цукровий діабет, ниркова недостатність, тромбоз, інфаркт міокарда, неврологічні розлади, анемія, лейкоцитоз та ін.) та життю пацієнтів. Проблема гострого панкреатиту має й соціальну значущість, оскільки майже 70% хворих – це люди активного працездатного віку (найбільший рівень захворюваності припадає на вік 30–50 років).

У зв'язку з цим необхідні дослідження порушень, якими супроводжується розвиток гострого панкреатиту, а також розробка способів метаболічної корекції та профілактики цього патологічного стану. На сьогодні значну увагу привертає застосування ω-3 поліненасичених жирних кислот під час профілактики та лікування різноманітних захворювань, таких як серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, запальні процеси та ін. Однак ефективність застосування цієї групи кислот з метою корекції патологічного стану, який розвивається під час гострого панкреатиту, практично не досліджена. Отже, актуальною є тема дисертаційної роботи Гопаненко О. О., присвяченої з'ясуванню особливостей порушень у процесах обміну ліпідів, пероксидного окиснення та стану антиоксидантної системи під час гострого панкреатиту (за його моделювання введенням тваринам L-аргініну) та за умов експериментального застосування рослинних олій, зокрема лляної олії, до складу якої входить значний вміст ω-3 поліненасичених жирних кислот.

Загальна канцелярія
ЛНУ імені Івана Франка
Вхідний № 239
«26» 02 2016

Зв'язок роботи з державними науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з тематичним планом наукових досліджень Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН у межах науково-технічної програми 31 «Фізіологія і біохімія тварин» (Фізіолого-біохімічні основи резистентності, високої продуктивності тварин і біологічної цінності продукції тваринництва), завдання 31.00.04.06 П «Розробити екологобезпечні основи та альтернативні способи регуляції резистенції організму тварин і підвищення їх продуктивності», № державної реєстрації 0111U005341, в межах якого автор вивчала оксидативні процеси, склад ліпідів і жирних кислот у клітинах кроликів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та його корекції згодовуванням лляної олії.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів. Наукова новизна досліджень полягає у з'ясуванні коригувального впливу лляної олії на метаболізм ліпідів і жирних кислот в клітинах тварин за умов гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту. У роботі встановлено, що лляна олія, яка багата на протизапальну ліноленову кислоту – представника ω-3 поліненасичених жирних кислот, за умов згодовування кроликам на тлі гострого панкреатиту виявляє коригувальний вплив на стан підшлункової залози та прооксидантно-оксидантну рівновагу, нормалізує склад ліпідів, підвищує співвідношення між вмістом протизапальних поліненасичених жирних кислот родини ω-3 і прозапальних поліненасичених жирних кислот родини ω-6 у складі триацилгліцеролів, фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу, стимулює перетворення холестеролу в жовчні кислоти, 25-ОН вітамін D_3, статеві гормони й кортикостероїди в організмі кроликів.

Водночас показано, що згодовування соняшникової олії, у складі якої міститься значна кількість прозапальної лінолевої кислоти, не виявляє коригувальної дії на стан підшлункової залози, прооксидантно-оксидантний баланс, склад ліпідів і співвідношення між вмістом ω-3 і ω-6 жирних кислот в організмі кроликів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту і гальмує перетворення холестеролу у відповідні похідні.

Практичне значення результатів дослідження. Результати, отримані під час виконання дисертаційної роботи, мають важливе практичне значення. Експериментально доведено, що лляну олію можна застосовувати для створення біологічно активних добавок для запобігання розвитку патологічних змін у підшлунковій залозі, розладу прооксидантно-оксидантного статусу та складу ліпідів і жирних кислот у клітинах за гострого панкреатиту.

На основі результатів досліджень розроблено спосіб корекції гострого панкреатиту (патент України на корисну модель № 85866).

Результати експериментальних досліджень впроваджено в навчальний процес кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка, кафедр біохімії та нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та на кафедрі клініко-лабораторної діагностики Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Аналіз структури і змісту дисертаційної роботи. Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою: складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел літератури, що нараховує 397 посилань (з них латиницею 260) та 5 додатків. Робота викладена на 181 сторінці друкованого тексту (основна частина – на 135 сторінках), містить 1 рисунок і 9 таблиць. У структурному відношенні робота відповідає встановленим вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт.

У «Вступі» автор обґрунтовує актуальність проблеми та важливість вибраного напряму досліджень, визначає мету і завдання, об'єкт і предмет досліджень, новизну та практичне значення результатів. Формулювання мети і завдань роботи, визначення об'єкту та предмету дослідження коректні. Перелік положень, які мають наукову новизну та значення для практики, відповідає суті виконаної роботи. У вступі також зазначено особистий внесок автора у виконання дисертаційної роботи і перелік наукових конференцій, на яких апробовані результати досліджень.

Розділ 1 дисертації («Огляд літератури») складається з п'яти підрозділів, у яких викладено інформацію про гострі панкреатити у людини та тварин і причини їх виникнення, пероксидні процеси у тканинах організму людини і тварин, синтез жирних кислот і обмін ліпідів в організмі людини і тварин та роль поліненасичених жирних кислот в організмі. На основі аналізу літературних даних проведено узагальнення результатів досліджень, що дало змогу обґрунтувати тему і завдання роботи та застосовані методи.

У 2-му розділі дисертації описані методи досліджень, які автор обрала для виконання експериментальної частини роботи. Описана схема досліджень та принципи формування дослідних груп тварин, методи отримання експериментального матеріалу та проведення досліджень. У

роботі використаний набір біохімічних методів (хроматографічний, фотометричний, імуноензимний, флуорометричний), а також гістологічні (визначення кількості некротизованих ацинарних епітеліоцитів) та статистичні методи. Загалом застосовані в дисертаційній роботі методики є відповідними для реалізації поставлених завдань.

Розділ 3, який присвячений опису результатів досліджень, складається з п'яти підрозділів. У 1-му підрозділі «Кількість некротизованих ацинарних епітеліоцитів у головці й хвості підшлункової залози та ліпазна і α-амілазна активність плазми крові кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту і за згодовування лляної й соняшникової олій» встановлено збільшення кількості некротизованих ацинарних епітеліоцитів у головці та хвості підшлункової залози кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту, що вказує на розвиток запального процесу в підшлунковій залозі та пошкодження її клітин. Показано, що лляна олія, яка містить у своєму складі велику кількість протизапальної ліноленової кислоти, виявляє коригувальний вплив на стан підшлункової залози у кроликів за гострого панкреатиту, нормалізуючи кількість некротизованих ацинарних епітеліоцитів у головці та хвості підшлункової залози, наближує до контролю активність ліпази та α-амілази в плазмі крові тварин. Згодовування соняшникової олія навпаки активує ліпазну та α-амілазну активність плазми крові кроликів за гострого панкреатиту і збільшує кількість некротизованих ацинарних епітеліоцитів в головці та хвості підшлункової залози тварин.

У 2-му підрозділі «Процеси пероксидації ліпідів у крові, печінці й скелетних м'язах кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та при згодовуванні лляної й соняшникової олій» встановлено, що в плазмі крові, печінці та скелетних м'язах кроликів за гострого панкреатиту зростає концентрація продуктів пероксидного окиснення ліпідів, змінюється активність ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази). Згодовування лляної олії протидіє розвитку оксидативного стресу в аналізованих клітинах кроликів, у яких індукували розвиток панкреатиту, а соняшникова олія не виявляє такої дії, а навпаки, підвищує концентрацію первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах кролів за гострого панкреатиту.

У 3-му підрозділі роботи «Концентрація фосфоліпідів, неестерифікованого й естерифікованого холестеролу, неестерифікованих жирних кислот, моно-, ди- та триацилгліцеролів у плазмі крові, печінці й скелетних м'язах кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту і за

згодовування лляної й соняшникової олій» показано, що у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах кроликів за гострого панкреатиту зростає вміст естерифікованого та неестерифікованого холестеролу і знижується рівень неестерифікованих жирних кислот. За таких умов згодовування тваринам лляної олії призводить до нормалізації ліпідного складу плазми крові, печінки та скелетних м'язів. Натомість, згодовування хворим тваринам соняшникової олії підсилює патологічний стан і розбалансовує ліпідний склад плазми крові, печінки та скелетних м'язів кроликів.

Значна увага в дисертаційній роботі приділена з'ясуванню вмісту жирних кислот загальних ліпідів і неестерифікованих жирних кислот та жирнокислотного складу фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу й триацилгліцеролів у плазмі крові, печінці й скелетних м'язах кроликів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та при згодовуванні лляної й соняшникової олій. Результати цих досліджень викладені в 4-му підрозділі власних досліджень. Показано, що вміст жирних кислот зростає в плазмі крові, печінці та скелетних м'язах тварин за гострого панкреатиту за рахунок ω-9 мононенасичених жирних кислот, поліненасичених жирних кислот ω-3 і ω-6 та, особливо, насичених жирних кислот. За умов згодовування лляної олії кроликам на тлі гострого панкреатиту в досліджуваному матеріалі зростає вміст жирних кислот родин ω-7 і ω-9 та поліненасичених жирних кислот родин ω-3 і ω-6. За згодовування самої лляної олії зростає вміст насичених жирних кислот, мононенасичених жирних кислот родин ω-7 і ω-9 та, особливо, поліненасичених жирних кислот родини ω-3 і ω-6. Водночас показано, що за умов гострого панкреатиту і згодовування лляної олії відбуваються зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу та триацилгліцеролів в плазмі крові та клітинах кроликів.

Останній підрозділ цього розділу дисертації присвячений з'ясуванню вмісту похідних холестеролу в крові кроликів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту і за згодовування лляної й соняшникової олій. Встановлено, що рівень таурохолевої, глікохолевої, глікодезоксихолевої, холевої, дезоксихолевої кислот у сироватці крові та 25–ОН вітаміну D3 у плазмі кроликів знижується за гострого індукованого панкреатиту. За таких умов згодовування лляної олії зумовлює зростання вмісту жовчних кислот, 25–ОН вітаміну D_3, тестостерону, кортизолу та альдостерону, а згодовування соняшникової олії призводить до зменшення значень цих показників.

Таким чином, викладені в роботі результати досліджень свідчать про те, що лляна олія, на відміну від соняшникової, позитивно впливає на стан

підшлункової залози, прооксидантно-оксидантну рівновагу, склад ліпідів і відношення протизапальних жирних кислот до прозапальних у тканинах, вміст похідних холестеролу у крові кроликів за умов гострого панкреатиту.

Розділ 4 присвячений узагальненню отриманих результатів, в якому автор проаналізувала експериментальні дані щодо метаболічних порушень у клітинах кроликів за умов гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту і впливу лляної та соняшникової олій на обмін ліпідів в організмі тварин.

Висновки дисертаційної роботи відображають основні етапи і зміст проведеного дослідження.

Зміст автореферату відповідає основним положенням дисертації.

Повнота викладення матеріалів досліджень в опублікованих працях. Основні положення дисертації висвітлені в у 16 наукових працях, у тому числі 12 у періодичних наукових виданнях, що входять до переліку фахових видань, з них 5 одноосібних, 3 тези у збірниках матеріалів наукових конференцій. Отримано патент України на корисну модель.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації та їхня достовірність.

Дисертаційна робота виконана із використанням достатньої кількості експериментального матеріалу. Застосовані методи сучасні та відповідні для вирішення основних завдань роботи. Отримані результати опрацьовані з використанням статистичних методів. Усі висновки ґрунтуються на фактично отриманих результатах досліджень. Ступінь достовірності результатів, обґрунтованості наукових положень і висновків не викликає сумніву.

Недоліки по змісту і оформленню дисертаційної роботи.

Принципових недоліків у дисертаційній роботі не виявлено, проте є деякі зауваження дискусійного характеру:

1. В «Огляді літератури» окремі підрозділи (1.3, 1.5) є надто деталізованими. Зокрема, надто детально описаний процес синтезу жирних кислот, що не зовсім доцільно, адже такі дані загальнодоступні у навчальній літературі. Натомість варто було більше уваги приділити розгляду механізмів розвитку гострого панкреатиту, вказати на рівень захворюваності на панкреатит, а також засоби, які нині застосовують у лікувальних схемах з метою корекції цього патологічного стану.
2. Автор не зовсім коректно зазначає, що «глутатіонпероксидаза та каталаза належать до другої ланки детоксикації пероксиду Гідрогену та утворення води». Проте згідно з сучасними положеннями, антиоксидантні ензими належать до 1-ї ланки захисних механізмів,

оскільки вони задіяні в детоксикації активних форм кисню, а до 2-ї ланки цих механізмів належать ензими, які беруть участь у репарації внутрішньоклітинних пошкоджень, зумовлених дією АФК.

3. Під час аналізу результатів автор помилково стверджує про те, що з ненасичених жирних кислот в організмі синтезуються цитокіни (с. 111, 117, 118).
4. Під час експериментів автор застосовувала введення лляної та соняшникової олій в організм тварин шляхом згодовування (нанесення на корм), проте доцільніше було вводити їх внутрішньошлунково (за допомогою зонда). Крім того, варто було провести спостереження за інтенсивністю споживання корму, який містив зазначені олії.
5. У схему досліджень автор включила групу кроликів, яким згодовували лише лляну олію, однак немає групи тварин, яким згодовували лише соняшникову олію. Варто було ввести таку групу тварин у схему експерименту, оскільки результати досліджень свідчать про значні відмінності в метаболічних ефектах цих олій за умов згодовування їх кроликам на тлі індукованого панкреатиту.
6. Під час аналізу отриманих результатів варто було пояснити, чим зумовлюється збільшення активності ензимів антиоксидантної системи в еритроцитах кроликів за умов експериментів, адже в цих клітинах не відбувається синтез ензимних молекул.
7. Назви окремих підрозділів роботи (наприклад, 3.1, 3.3, 3.4) надто громіздкі; відсутній перелік умовних позначень та скорочень. Список використаних наукових джерел варто було доповнити посиланнями на сучасну літературу, оскільки з наявних 397 джерел лише 8 посилань датуються 2015 роком.
8. У тексті дисертаційної роботи трапляються неточності у формулюваннях; деякі назви ензимів і терміни, які автор використовує в роботі, сформульовані некоректно, наприклад, ліпопротеїнова ліпаза (с.16), дигліцерол-ацилтрансфераза (с. 25), амфіпатичні ензими (с. 30), кортикостероли (с. 35, 114, 115, 116, 122) та ін. У тексті роботи трапляються русизми (наприклад, «оточуюче середовище» замість «навколишнє середовище», «обумовлений» замість «зумовлений», «більш висока стійкість» замість «більша стійкість» та ін.), а також деякі граматичні помилки.

Однак зазначені зауваження не зменшують наукового значення дисертаційної роботи та її цінності як завершеного експериментального дослідження, присвяченого з'ясуванню актуальної наукової проблеми.

Висновок.

Дисертаційна робота Гопаненко Ольги Орестівни «Пероксидні процеси та ліпідний склад плазми крові, печінки й скелетних м'язів кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та його корекції» є завершеною науковою працею, яка містить оригінальні відомості щодо змін у процесах обміну ліпідів, пероксидного окиснення та стану антиоксидантної системи в організмі тварин за гострого панкреатиту, індукованого L-аргініном, та особливостей коригувального впливу лляної олії на метаболічні процеси в клітинах за умов гострого панкреатиту.

Вищевказане дає підстави вважати, що за актуальністю теми, методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, новизною отриманих результатів та їх практичним значенням дисертаційна робота відповідає вимогам ДАК МОН України до кандидатських дисертацій, зокрема п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567, а її автор, Гопаненко Ольга Орестівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент,
професор кафедри екології Львівського
національного університету імені Івана Франка,
доктор біологічних наук, професор Антоняк Г.Л.
26.02.2016 р.

Підпис Г.Л. Антоняк засвідчую.
Вчений секретар Львівського національного університету
імені Івана Франка Грабовецька О.С.