

## **ВІДЗИВ**

**офіційного опонента на дисертаційну роботу Мялюк Оксани Петрівни  
«Особливості перебігу вільнорадикального й енергозабезпечувального  
окиснення при експериментальному аліментарному ожирінні»,  
подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук  
зі спеціальності 03.00.04 – біохімія**

### **Актуальність теми дисертаційної роботи.**

Актуальність роботи зумовлена високою ймовірністю спричиненням аліментарним ожирінням розвитку цукрового діабету 2 типу, гіпертонії, ішемічної хвороби серця, деяких видів раку, остеоартриту, захворювань дихальних шляхів, а також порушень репродуктивної функції, значного зростання захворюваності та смертності, у зв'язку з чим виникає потреба дослідження механізмів розвитку та перебігу порушеного ліпідного, вуглеводного і енергетичного обмінів за аліментарного ожиріння, їх регуляції та інтеграції за умов оксидативного стресу і зміни макро- та мікро- елементного складу, які супроводжують стан ожиріння, на метаболічному і клітинному рівнях.

Загалом, зважаючи на багатокомпонентність механізмів виникнення і прогресування аліментарного ожиріння, необхідно вибудувати певну послідовність процесу, виокремити фактори регуляції його стадій та встановити параметричні закономірності розвитку цієї патології.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є фрагментом планової комплексної науково-дослідної роботи ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» на тему «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах» (№ держреєстрації 0112U000542), в якій здобувач є співвиконавцем.

**Новизна основних наукових положень, висновків та одержаних результатів, сформульованих у дисертації** полягає у вперше отриманих нових даних щодо мітохондріального шляху ініціації апоптозу через зниження трансмембранного потенціалу, дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах, що призводить до цитолітичного синдрому, який проявляється вибіркоvim підвищенням активності амінотрансфераз у крові і печінці та загибеллю лейкоцитів тканини печінки по типу апоптозу.

*Набули подальший розвиток* положення про функціональні зміни гепатоцитів, пов'язані з порушенням енергетичного метаболізму за аліментарного ожиріння та їх зв'язок з мікроелементним (переважно цинк і купрум) статусом тканини печінки та крові.

## **Науково-практична цінність роботи і конкретні шляхи застосування результатів досліджень.**

Отримані результати є теоретичним підґрунтям для встановлення регуляторних факторів, що визначають формування і рівень порушень перебігу ліпідного, вуглеводного і пов'язаного з ними енергетичного метаболізму, за аліментарного ожиріння у печінці піддослідних тварин і регуляторних впливів на них процесу пероксидації ліпідів та зміни макро- і мікро- елементного складу клітин. Значну увагу приділено оцінці функціонального стану гепатоцитів, лімфоцитів та адипоцитів, прискорення за цієї патології апоптозу, що може бути основою запровадження встановлених змін в діагностичну клініко-лабораторну практику.

## **Повнота викладу основних наукових положень та висновків у опублікованих наукових працях.**

Результати дисертаційного дослідження висвітлені у 15 публікаціях, із яких: 4 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у періодичних іноземних виданнях, 8 – у матеріалах наукових конгресів і конференцій та 1 патент України на корисну модель.

Основні положення дисертації апробовані на 7 конференціях, з'їздах та конгресах. Зміст опублікованих робіт та автореферат повністю відображають основні положення дисертації та її суть.

## **Структура роботи.**

Дисертаційна робота Мялюк О.П. викладена на 142 сторінках комп'ютерного тексту та побудована за традиційною схемою. Вона складається зі вступу (стор. 6-12), аналітичного огляду літератури (стор. 13-32), характеристики об'єкту та методів дослідження (стор. 33-56), двох розділів, присвячених результатам власних досліджень (стор. 57-92), завершується узагальненням отриманих дисертантом результатів (стор. 93-108), висновків та списку використаної літератури, що містить 281 найменування на 30 сторінках. Результати роботи проілюстровані 19 таблицями та 13 рисунками. Співвідношення та обсяг окремих частин роботи відповідають рекомендаціям ДАК України. Всі положення сформульовано чітко і грамотно.

У *Вступі* авторка обґрунтовує актуальність власного дослідження, спрямовану на вирішення біомедикосоціальної проблеми – аліментарного ожиріння, необхідність розкриття механізмів його розвитку, метаболічної характеристики цієї патології та можливі підходи до її подолання, на основі чого формулює мету та завдання роботи, зазначає апробацію результатів, наведених у дисертації, особистий внесок та обсяг і структуру роботи. Сформульовані завдання повністю відповідають поставленій меті та розкривають її. Положення, які мають наукову новизну та практичне значення, відповідають суті виконаної роботи.

**Перший розділ** дисертації містить аналітичний огляд літератури, в якому висвітлено й узагальнено сучасні дані щодо факторів детермінації та механізмів формування аліментарного ожиріння, розвиток та причини біохімічних порушень в організмі за цієї патології, основні прогалини здійснених досліджень з проблеми, що вивчається, зазначаються окремі ланки метаболізму, які досліджені недостатньо, насамперед, роль вільнорадикальної ініціації клітинної і тканинної патології, порушення функціонування енергогенеруючих систем, роль мікроелементів у регуляції цих процесів. На основі аналізу літератури констатовано, що в основі аліментарного ожиріння лежить перевищення надходження та біосинтезу в тканинах нейтральних жирів та інших біомолекул, які можуть перетворюватися в жири, над реальними енергетичними потребами організму, що веде до поліорганного ураження організму, а біохімічні аспекти аліментарного ожиріння засвідчують детермінаційну роль оксидативного стресу, запалення на перебудову з боку обміну речовин і механізмів його регуляції в тканинах внутрішніх органів, що покладено в основу концепції експериментального дослідження.

Огляд заслуговує схвалення, оскільки є аналітичним, засвідчує добру обізнаність дисертантки з проблемою дослідження та демонструє намагання всебічного аналізу раніше отриманих даних.

У **другому розділі** наведено характеристику об'єкту дослідження з точки зору характеру дослідженої патології. Насамперед досить детально і обґрунтовано виписано методику відтворення аліментарного ожиріння, модифіковану дисертанткою у співавторстві (Пат. № 87711 Україна, МПК (2006.01) А 61 К 31/195. Спосіб моделювання аліментарного ожиріння). Одержані здобувачем результати є достовірними та об'єктивними, оскільки ґрунтуються на використанні сучасних методів дослідження (визначення вмісту субстратів ліпідного та енергетичного метаболізму і активності ензимів, визначення вмісту катіонів – атомно-адсорбційна спектрофотометрія, функціональні дослідження стану клітин, статистична обробка експериментальних даних).

З вичерпною повнотою описано використані методи та методики відбору постановки експериментів, препаративні та аналітичні методи біохімічного аналізу. В розділі авторкою приводяться методики дослідження низки біохімічних показників: вміст субстратів вуглеводного та енергетичного метаболізму, вміст білків, метаболітів, що супроводжують оксидативний стрес та антиоксидантний стан клітин, активності ензимів, що характеризують антиоксидантні та захисні системи.

Всі експериментальні дослідження виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.) і ухвали Першого

національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), що підтверджено комісією з біоетики Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол засідання № 31 від 19.10. 2015).

Отримані результати оброблені статистично належним чином, їх вірогідність та достовірність не викликають сумніву.

В цілому, цей розділ показує, що дисертанткою застосовано коректні умови експерименту та цілком адекватні для медико-біохімічних досліджень методики, що забезпечило успішне виконання роботи та одержання нових даних.

У *третьому розділі* «Характеристика процесів біологічного окиснення за умови аліментарного ожиріння у щурів» дисертаційної роботи авторка представляє результати досліджень комплексу показників вуглеводного, ліпідного й білкового обмінів, функціонального стану печінки та рівень ендогенної інтоксикації.

У тварин з експериментальним аліментарним ожирінням у крові спостерігається порушення вуглеводного, насамперед, зростання вмісту глюкози (на 7,2 %) й індексу НОМА (на 18,4 %)), ліпідного (підвищення концентрації лептину на 69,2 %, загального холестеролу (на 54,9 %) і триацилгліцеролів (на 53,6 %)) та білкового (зниження вмісту альбумінів (на 23,7 %) і зростання глобулінів (на 43,1 %)) обмінів. Поряд з цим у тварин з модельованим аліментарним ожирінням має місце гіперпродукція кисневих радикалів, що призводить до активації процесів ліпідної і білкової пероксидації, підвищення показників спонтанного окиснювання. Також ініціюється мітохондріальний шлях клітинної загибелі через зниження трансмембранного потенціалу, дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах, який веде до підвищення практично втричі показника апоптичної загибелі клітин печінки через 28 діб експерименту. Разом з цим, має місце пригнічення антиоксидантного захисту, що виявляється у зниженням показників ензимної ланки (супероксиддисмутази на 22,1 % і каталази на 12,7 %), проти даних на 14 добу ( $p < 0,05$ ); зниженні активності глутатіонзалежної антиоксидантної ланки у крові, печінці та жировій тканині щурів через зменшення рівнів відновленого і підвищення окисленого глутатіону, що узгоджується зі зниженням активності глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази в клітинних і тканинних субстратах.

Також має місце розвиток ендогенної інтоксикації через кількісне наростання в діапазоні хвиль 254–282 нм та якісний перерозподіл речовин низької і середньої молекулярної маси між плазмою крові й еритроцитами, переважно катаболічного походження, що негативно впливає на їх елімінацію нирками.

Метаболічний дисбаланс супроводжується порушенням жовчоутворювальної функції печінки у щурів, про що свідчить підвищення вмісту холестеролу, зниження суми жовчних кислот зі збільшенням показників холато-холестеролового коефіцієнта.

У *четвертому розділі* «Роль макро- і мікроелементів у механізмах порушення енергозабезпечення тканини печінки за умови аліментарного ожиріння», йдеться про комплекс змін, що характеризують за аліментарного ожиріння формування ендогенної патології клітин. Встановлено кореляційні зв'язки між показниками системи пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту та рівнем раннього апоптозу в тканині печінки. За умови аліментарного ожиріння ініціюється мітохондріальний шлях апоптозу через зниження трансмембранного потенціалу, який веде до розвитку цитолітичного синдрому, що проявляється вибірковим підвищенням активності амінотрансфераз у крові і печінці. Встановлено, що на рівень апоптичної загибелі за умови аліментарного ожиріння найвагоміший вплив має зниження активності СОД. Експериментальне ожиріння зумовлює дезорганізацію енергозабезпечувального окиснення у гепатоцитах (вірогідне зменшення в печінці через 28 діб експерименту активності СДГ і ЦХО, що відображається на перебігу усіх метаболічних перетворень, які залежать від постачання енергії. Пригнічення детоксикуючої функції печінки на тлі аліментарного ожиріння є результатом негативного впливу на мітосомну ензимну систему печінки.

Аналіз мікроелементного обміну в крові щурів з аліментарним ожирінням показав достовірне зниження рівня сироваткового феруму, магнію і цинку та відповідним підвищенням купруму, при цьому що ТБК-АП позитивно корелюють з вмістом купруму ( $r=0,66$ ;  $p<0,05$ ), ОМБ ( $r=0,59$ ;  $p<0,05$ ) прямо взаємодіють з рівнем сироваткового феруму і негативно – з вмістом цинку у крові ( $r=-0,60$ ;  $p<0,05$ ). Порушення макро- і мікроелементного обміну через 28 діб моделювання аліментарного ожиріння у щурів характеризується підвищенням рівня купруму і зниженням вмісту цинку в тканині печінки, що узгоджується з активністю супероксиддисмутази і каталази, які входять до складу ензиму Cu/Zn-СОД. Встановлено, що через 28 діб експерименту функціональна здатність антиоксидантної системи виснажується, а взаємозв'язок з мікроелементами втрачається.

У *підрозділі* «Аналіз та обговорення» здійснено теоретичне обговорення отриманих даних, на основі яких авторка дисертації стверджує, що одним із ключових механізмів розвитку патологічного стану за аліментарного ожиріння є порушення жирового і вуглеводного обмінів через активацією вільнорадикального окиснення та зміщення балансу між про- та антиоксидантами. За ожиріння надлишковий потік нутрієнтів в адипоцитах призводить до порушення внутрішньоклітинного енергетичного балансу в бік збільшення надходження енергії. Швидка адаптація до цих умов спочатку здійснюється підвищенням окислювальних процесів і витрачанням надлишку енергії з наступним розвитком мітохондріального оксидативного стресу, що веде до перебудови обміну речовин і

механізмів його регуляції в тканинах внутрішніх органів, пов'язаних, насамперед, з рівнем мікроелементів, спряжених з мембранним транспортом у мітохондріях та функціонуванням ензимів антиоксидантної системи. На основі узагальнення даних літератури та отриманих результатів дослідження запропоновано схему розвитку метаболічних порушень в тканині печінки за аліментарного ожиріння (рис. 5.1, с. 107).

### **Ступінь обґрунтованості основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.**

Сформульовані Мялюк О.П основні наукові положення та висновки спираються на достатній обсяг власних експериментальних даних. При проведенні досліджень було застосовано комплекс методів, що повністю співвідносяться з поставленою метою та завданнями роботи. Достовірність отриманих дисертанткою результатів підтверджена відповідною статистичною обробкою. Зроблені авторкою висновки інформативні, змістовні, достатньо обґрунтовані, логічно впливають із одержаного фактичного матеріалу та свідчать про досягнення мети та завдань роботи.

Водночас слід вказати і на певні недоліки та побажання до даної роботи:

1. В практичному значенні роботи варто конкретно вказати на ті з отриманих показників, що можуть бути основою для встановлення маркерів ступеня розвитку і небезпечності для здоров'я аліментарного ожиріння.

2. В огляді літератури у п. р. 1.3. поряд з інформацією щодо досліджуваної проблеми занадто об'ємно подано загальновідому інформацію про регуляторну роль мікроелементів у метаболізмі загалом.

3. В розділі 2 Матеріали і методи досліджень, що займає 24 с. обсягу дисертаційної роботи, детально і вмотивовано описано процедуру моделювання аліментарного ожиріння, проте варто скоротити опис препаративних процедур та деталізацію аналітичної частини.

4. У табл. 4.1 (с. 82) для показників активностей СДГ, ЦХО, Н<sup>+</sup>-АТФ-ази для n=6 дуже низькі значення середнього квадратичного відхилення (7,28±0,04, 7,55±0,06, 344,16±3,42 тощо).

5. Текст роботи, включно список літератури, має певні стилістичні і граматичні недоречності, включно трапляється застаріла номенклатура: соляна кислота, азотна кислота (с. 54), пероксид чи перекис (с. 30) водню, ферменти (-ів), «порушення ферментного обміну були пов'язані з втягненням печінки у патологічний процес» (с. 80); є формальні неточності у оформленні списку літератури, включно не наведено останньої дати перевірки електронних ресурсів.

Разом з тим, оскільки зауваження та пропозиції стосуються, переважно, представлення та інтерпретації отриманих експериментальних даних, а їх новизна, науково-теоретичне та практичне значення загалом не викликають сумнівів,





«порушення ферментного обміну були пов'язані з втягненням печінки у патологічний процес» (с. 80); є формальні неточності у оформленні списку літератури, включно не наведено останньої дати перевірки електронних ресурсів.

Разом з тим, оскільки зауваження та пропозиції стосуються, переважно, представлення та інтерпретації отриманих експериментальних даних, а їх новизна, науково-теоретичне та практичне значення загалом не викликають сумнівів, дисертаційна робота є завершеним експериментальним дослідженням зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

#### **Загальний висновок**

Аналіз поданих для розгляду матеріалів (рукопису дисертації, автореферату, публікацій) дозволяє дійти висновку про те, що за актуальністю дослідженої в роботі проблеми, сучасними методами її вирішення, новизною одержаних результатів, перспективою їх практичного використання, публікацією матеріалів дослідження у фахових виданнях та особистим вкладом авторки робота Мялюк Оксани Петрівни «Особливості перебігу вільнорадикального і енергозабезпечувального окиснення при експериментальному аліментарному ожирінні», є завершеним науковим дослідженням, що вносить вагомий внесок у сучасну біохімію. За новизною, теоретичним і практичним значенням вона відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (із змінами, внесеними згідно з постановами КМ № 656 від 19.08.2015 та № 1159 від 30.12. 2015 р), що висуваються до кандидатських дисертацій, а Мялюк Оксана Петрівна, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.04 – біохімія.

#### **Офіційний опонент:**

завідувач кафедри загальної біології  
та методики навчання природничих дисциплін  
Тернопільського національного  
педагогічного університету  
імені Володимира Гнатюка,  
доктор біологічних наук, професор



В.В. Грубінко

13.06.2016 року



*Отримав надісланий у  
секретаріату великої ради  
к 58.601.04. 15.06.2016р.*  
*Великий секретар секретаріату  
великої ради к 58.601.04*  
*Грубінко Т.І*