

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук,

професора Склярова Олександра Яковича

на дисертаційну роботу Стецев'ята Василя Богдановича на тему:
«Тиреоїдний статус, метаболічні процеси та їх гендерні особливості за
умов йододефіциту й інсулінорезистентності в експерименті»,
представлену у спеціалізовану вчену раду Д 35.600.03 у
Львівському національному медичному університеті
імені Данила Галицького на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія

Актуальність теми. Дисертаційна робота присвячена вивченню пограничних фізіологічних станів організму за умов виникнення інсулінорезистентності та гіпофункції щитоподібної залози. Між щитоподібною залозою та інсулярним апаратом підшлункової залози є тісний функціональний взаємозв'язок. Гормони щитоподібної залози приймають участь у регуляції багатьох функцій різних органів та клітин, у тому числі, є ключовими у метаболічних процесах обміну ліпідів, вуглеводів та білків. На клітинному рівні за участю гормонів щитоподібної залози відбувається не тільки регуляція процесів всмоктування глюкози у кишці, а також вплив на рівень глюкози у крові, метаболізм глікогену в печінці та транспорт глюкози у клітини за участю GLUT5. Провідна роль тиреоїдним гормонам належить і в регуляції метаболізму ліпідів у клітинах – вони посилюють процеси утилізації жиру, впливають на утворення бета-ліпопротеїдів, зменшують гідроліз тригліцеридів. Вказані аспекти обґрунтовують актуальність проведення досліджень по вивченню процесів, обумовлених зниженням продукції гормонів щитоподібної залози на тлі інсулінорезистентності.

Потребують поглиблення механізми розвитку
інсулінорезистентності на тлі йододефіциту з урахуванням гендерних

особливостей та у нащадків наступних поколінь, що є важливим для прогнозування спадкового перебігу метаболічних процесів.

Акцент у проведеному дослідженні був зроблений на експериментальному обґрунтуванні гормонально-метаболічних особливостей за умов вродженого та набутого йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму, що є важливим питанням як для фізіології, так і практичної медицини.

2. Зв'язок роботи з державними чи галузевими науковими програмами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Івано-Франківського національного медичного університету «Метаболічні основи впливу есенціальних мікроелементів на забезпечення структурного і функціонального гомеостазу щитоподібної залози» (номер державної реєстрації 0111U000871, 2010-2015 рр., 2016-2017 рр.) та «Морфофункціональні та цитогенетичні особливості органів і тканин при йододефіцитних станах, гіпотиреозі» (номер державної реєстрації 0114U005624, 2015-2017 рр., фінансування із фондів державного бюджету). Здобувач був співвиконавцем даних наукових робіт.

Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» 25 червня 2015 року (протокол № 7) та уточнена на засіданні цієї ж вченої ради 23 квітня 2019 року (протокол № 5).

3. Новизна наукових положень і висновків дослідження.

У дисертаційній роботі Стецев'ята В. Б. проведено комплексне дослідження по вивченню механізмів розвитку інсулінорезистентності за умов йододефіциту з урахуванням гендерних особливостей в експерименті. На основі вивчення вуглеводного та ліпідного обмінів, кисневозалежних процесів, антиоксидантних процесів, морфологічного дослідження печінки, тиреоїдного статусу автором були отримані нові дані, що дали змогу виділити ключові критерії розвитку процесів інсуліноорезистентності на тлі йододефіциту.

Автором вперше отримані нові дані, що свідчать про значення тиреоїдного гомеостазу в інсулінорезистентних тварин, при цьому запропоновані маркери порушень гіпофізарно-тиреоїдної ланки та відзначено, що ймовірність виникнення тиреоїдної дисфункції вища у самок.

Дисертантом поглиблені уявлення щодо змін вуглеводного обміну за умов споживання високофруктозної дієти у самців та самок та її негативний вплив на досліджувані процеси у другому поколінні тварини. Показано, що у самців високофруктозна дієта на тлі йододефіциту має більший ризик розвитку інсулінорезистентності.

Автором оцінені процеси ліпопероксидації, показники про- та антиоксидантної системи у підшлунковій залозі та печінці, визначені морфологічні зміни у печінці, що доповнюють існуючі погляди на механізми розвитку інсулінорезистентності за умов вродженого та набутого йододефіциту та навантаження фруктозою.

Визначені зміни обміну ліпідів, вмісту нітроген оксиду та запропоновані маркери при розвитку інсулінорезистентності за умов йододефіциту та навантаження фруктозою дають змогу оцінити ступінь порушень гормонально-метаболічних процесів.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Робота має фундаментальний характер і обґрунтовану конкретну практичну спрямованість. Результати дослідження є важливими для фізіології (зокрема, фізіології ендокринної, серцево-судинної, травної систем), патофізіології, біохімії, оскільки характеризують особливості тиреоїдного статусу, маркери вуглеводного та ліпідного обміну, про-/антиоксидантний статус інсулінорезистентних тварин за умов вродженого та набутого йододефіциту.

Науково-методичний підхід автора при проведенні експериментальних досліджень може послужити теоретичною основою для клінічних спостережень щодо розширення превентивних заходів розвитку

переддіабету та мінімальної тиреоїдної недостатності, ранньої діагностики розвитку інсулінорезистентності, гіпотиреозу, метаболічного синдрому, особливо у мешканців ендемічних по зобу регіонів. Важливо, що в експерименті використано тільки дієтоіндуковані моделі (інсулінорезистентності та йододефіциту). Отримані дані можуть бути використані також у наукових фармакологічних дослідженнях щодо вибору засобів профілактики та ефективності корекції метаболічних проявів інсулінорезистентності, йододефіциту та їх поєднання.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес профільних кафедр низки вищих медичних закладів освіти (Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, ВДНЗУ «Буковинський державний медичний університет», ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, Національного фармацевтичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету), що підтверджено відповідними актами впровадження, які розміщені у додатку.

5. Ступінь обґрунтованості та достовірності положень і висновків, сформульованих у дисертації, повноту їх викладу в опублікованих працях. У дисертації представлені фактичні дані та теоретичні узагальнення, які є власним науковим здобутком автора. Робота виконана на засадах доказової медицини. В основі наукової роботи Стецев'ята В.Б. лежать результати досліджень на 203 щурах (самцях та самках) масою 150-230 г. Для досягнення мети проведено п'ять напрямків досліджень: два із яких для порівняння (моделювання вродженого та набутого йододефіциту) та моделювання інсулінорезистентності за умов належного забезпечення йодом, вродженого та набутого йододефіциту. Зважаючи на дієтоіндуковані моделі інсулінорезистентності та йододефіциту, контрольну групу складали інтактні тварини, які перебували у стандартних

умовах віварію та на звичайному харчовому раціоні. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під кетаміновим наркозом.

Упродовж дослідження щурів утримували в умовах віварію Івано-Франківського національного медичного університету. Дослідження проведено відповідно до положень та дозволу комісії з біоетики ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол 78/14 від 12.06.2014). Після завершення експерименту ця ж комісія підтвердила дотримання основних засад Правил проведення робіт із використанням лабораторних тварин (1977), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, яких використовують в експериментах та інших наукових цілях (1986), Директиви ЄЕС № 609 (1986), Наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. «Про міри по подальшому вдосконаленню організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин» та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006) (протокол № 109/19 від 29.05.2019).

Дослідження проведені на високому науковому та методичному рівнях. Використані методи дослідження сучасні та дозволяють досягнути мети дослідження, вирішити поставлені завдання. Достовірність результатів та висновків роботи забезпечена репрезентативністю дослідних груп, аргументованістю вибору об'єкта та предметів дослідження, сучасним статистичним аналізом цифрових даних, їх чітким літературним обґрунтуванням. Багатоплановість дослідження, науково-методичний підхід, обраний автором, гарантує абсолютну доброякісність отриманої наукової інформації. Усе це забезпечило високу інформативність, достовірність і новизну отриманих даних, висновків, що повністю відповідають меті та завданням дослідження. Прилади, що були використані в ході експериментальних досліджень, підлягали систематичному метрологічному контролю. У роботі не були використані ідеї та розробки, які належать співавторам опублікованих робіт.

Наукові положення та висновки дисертаційної роботи повністю висвітлені в публікаціях дисертанта. Робота достатньо ілюстрована високоякісними рисунками мікрофотографій препаратів, діаграмами та таблицями, які цілком відображають обсяг проведених досліджень. Все вищевказане свідчить про те, що отримані результати, а також наукові положення і висновки дисертації є достатньо обґрунтованими та достовірними.

6. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. Наукові положення дисертації повною мірою викладені в опублікованих дисертантом 20-ти наукових працях, із яких чотири статті у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (три із них включено до міжнародних наукометричних баз), дві статті – в іноземних виданнях. Матеріали дисертації не однократно були оприлюднені на наукових форумах рівного рівня (у тому числі за межами України).

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації. Дисертація викладена на 220 сторінках (з них 123 сторінки основного тексту), оформлена згідно з існуючими вимогами. Структура її традиційна. Дисертація містить анотацію, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, трьох додатків. Здобуті автором результати повністю відображено у рисунках та таблицях із зазначенням результатів статистичного опрацювання. Список літератури містить 352 найменування (у тому числі 46 % кирилицею, 54 % латиницею), оформлений відповідно до існуючих вимог. Значна частина посилань опублікована впродовж останніх п'яти років.

У роботі міститься анотація, у якій представлено короткий зміст роботи (українською та англійською мовами), список друкованих праць.

У «Вступі» обґрунтована актуальність та доцільність проведення

дослідження, зв'язок з науковими програмами та темами, сформульована мета й завдання, окреслена наукова новизна та практична цінність отриманих результатів, особистий внесок здобувача, наведені дані про апробацію результатів дисертації та публікації. Вступ займає 7 сторінок.

У розділі 1 (огляд літератури) кваліфіковано представлено нові дані літератури, які відображають причини та механізми розвитку, метаболічні прояви інсулінорезистентності. У розділі детально проаналізовано літературні дані щодо особливостей вуглеводного та ліпідного гомеостазу за умов інсулінорезистентності та йододефіциту. Автором визначено питання, що є актуальними, залишаються дискусійними і представляють інтерес для подальшого вивчення. Розділ викладений на 18 сторінках, складається із двох підрозділів, ілюстрований одним рисунком.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» складається з чотирьох підрозділів, у яких детально описані об'єкти та умови дослідження, використані у роботі фізіологічні, біохімічні, гістологічні, морфометричні та статистичні методи опрацювання результатів досліджень. У зазначеному розділі автор вказує, що комплексні дослідження виконані на кафедрі фізіології, експерименти проведено на базі віварію, дослідження виконано на базі акредитованих лабораторій Івано-Франківського національного медичного університету. Розділ викладений на 25 сторінках, містить одну таблицю, ілюстрований одним рисунком.

Результати власних досліджень описано у трьох розділах.

У розділі 3 «Статеві особливості гормонально-метаболічного статусу інсулінорезистентних щурів за умов належного забезпечення йодом, вродженого та набутого йододефіциту» представлено результати дослідження впливу фруктози на тиреоїдний гомеостаз тварин за умов належного забезпечення йодом, вродженого та набутого йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму. Автором встановлено зміни тиреоїдного гомеостазу в інсулінорезистентних щурів: зменшення секреції вільного трийодтироніну (FT_3) та тиреотропного гормону (ТТГ) щодо

даних у інтактних тварин. Виявлено, що перебування тварин на йододефіцитній дієті супроводжується переважанням синтезу FT_3 на тлі зростання ТТГ, зниження екскреції йоду з сечею. За умов інсулінорезистентності на тлі йододефіциту у сироватці крові тварин зростає вміст ТТГ. Маркерами порушень тиреоїдного статусу за умов інсулінорезистентності запропоновано вважати зниження індексів FT_3/FT_4 та ТТГ/ FT_4 , тоді як за умов йододефіциту – їх зростання щодо даних інтактних тварин.

На основі характеристики маркерів вуглеводного обміну у щурів за умов навантаження фруктозою встановлено розвиток інсулінорезистентності (зростає індекс НОМА-IR). Найбільш суттєві зміни маркерів вуглеводного обміну за умов навантаження фруктозою (збільшення вмісту глюкози, імунореактивного інсуліну та сечової кислоти в сироватці крові, HbA1c у цільній крові) спостерігали у самців. Автором з'ясовано, що в інсулінорезистентних самок толерантність до глюкози зростала за умов йододефіциту, особливо вродженого. Автор аргументовано доказує, що порушення тиреоїдного гомеостазу підвищує ризик розвитку інсулінорезистентності.

Інсулінорезистентність у тварин супроводжується зміною ліпідного спектру крові: гіперхолестеринемією, гіпертригліцеридемією на тлі зменшення вмісту холестерину ліпопротеїнів високої щільності у сироватці крові. Збільшення проатерогенних фракцій ліпідів зростає за умов йододефіциту, а особливо за умов навантаження фруктозою на тлі йододефіциту у двох поколінь тварин. Автором ретельно представлені гендерні особливості ліпідного спектру крові інсулінорезистентних щурів за умов належного забезпечення йодом, вродженого і набутого йододефіциту та їх поєднання. У ході дослідження з'ясовано високу ймовірність порушення ліпідного обміну в експериментальних тварин (більше у самців), що асоціюється зі змінами тиреоїдного гомеостазу й

вуглеводного обміну. Ризик розвитку дисліпідемії у самок зростає за умов комбінованої ендокринної патології.

Розділ структурований на три підрозділи, викладений на 17 сторінках, ілюстрований 9 рисунками.

У розділі 4 «Інтенсивність окисної модифікації білків, пероксидації ліпідів у сироватці крові, тканинах проміжного мозку, печінки і підшлункової залози, протирадикальний захист сироватки крові щурів із інсулінорезистентністю та вродженим і набутим йододефіцитом» представлено зміни пероксидації білків та ліпідів у досліджуваних тканинах. У ході дослідження встановлено, що у щурів з інсулінорезистентністю інтенсифікуються процеси пероксидації білків та ліпідів, особливо у печінці та підшлунковій залозі. Такі зміни відбуваються за умов виснаження антиоксидантного резерву на тлі активації глутатіонової системи захисту. Автор ретельно аналізує зміни складових антиоксидантного потенціалу у тварин. Найбільш виражені порушення протирадикального резерву за умов інсулінорезистентності спостерігаються у самців, що асоціюються зі змінами вуглеводного гомеостазу та розвитком інсулінорезистентності. За таких умов суттєво зменшується вміст нітрит-іона у сироватці крові дослідних тварин. З'ясовано, що обтяжуючими чинниками порушень про-/антиоксидантного балансу є перебування інсулінорезистентних щурів на йододефіцитній дієті, особливо у другому поколінні тварин.

Розділ структурований на два підрозділи, викладений на 14 сторінках, ілюстрований 7 рисунками.

У розділі 5 «Активність печінкових трансаміназ і структурні особливості печінки інтактних та інсулінорезистентних щурів за умов вродженого і набутого йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму» відображена характеристика зміни активності амінотрансфераз сироватки крові інсулінорезистентних щурів за умов вродженого та набутого йододефіциту. Зважаючи на отримані у ході

дослідження біохімічні дані метаболічних процесів в інсуліночутливих органах, у розділі автор детально представляє особливості структурної організації печінки інтактних, інсулінорезистентних щурів за умов належного забезпечення йодом, вродженого та набутого йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму. З'ясовано, що в інсулінорезистентних тварин спостерігали розвиток дистрофічних змін у гепатоцитах. У самців дистрофія мала більше дифузний, у самок - зональний характер процесів. Зазначені порушення аргументовані змінами метричних показників гепатоцитів. Автор також акцентує увагу на змінах у структурі судин органа. Гістологічні зміни асоціюються зі збільшенням активності амінотрансфераз сироватки крові, що відображають наростання цитолізу гепатоцитів.

Розділ структурований на два підрозділи, викладений на 35 сторінках, містить 11 таблиць та ілюстрований 35 рисунками (у тому числі 33 мікрофотографіями).

Автор після кожного підрозділу наводить детальні висновки представлених фрагментів досліджень, а після кожного розділу – перелік наукових праць, де опубліковані та апробовані результати власних досліджень.

У розділі 6 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» отримані результати логічно співставляються з літературними даними. Автор акцентує на новизні отриманих даних, їх науковій та практичній цінності. Здобувач порівнює результати власних досліджень з літературними даними, адекватно обґрунтовує отримані дані. Розділ написаний у вигляді наукової дискусії з високим рівнем науково-інформаційного супроводу. Автор дисертації використовує достатню кількість зарубіжних та вітчизняних джерел наукової літератури, які ретельно застосовані дисертантом для порівняльного аналізу. Розділ викладений на 26 сторінках.

Висновки роботи (кількістю п'ять) обґрунтовані, логічні, конкретні, базуються на результатах власних даних автора та повністю відповідають завданням дослідження, які були поставлені перед здобувачем.

У додаток включені акти впроваджень, відомості про апробацію результатів та наукові праці, що опубліковані за темою роботи.

Зміст автореферату дисертації та публікацій за темою дослідження співпадає з основними положеннями наукової роботи і відповідає тексту самої дисертації.

8. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації. Дисертація оформлена відповідно до чинних вимог. У дисертаційній роботі ретельно продуманий дизайн, вдала структурна будова із логічним розв'язанням поставлених завдань та досягненням мети дослідження, інформативними ілюстраціями, що відображають зміни досліджуваних показників. Принципових недоліків щодо структури, змісту, оформлення, обсягу, науково-теоретичного та практичного значення, висновків у представленій дисертаційній роботі не виявлено.

У цілому позитивно оцінюючи дисертаційну роботу, необхідно вказати на зауваження, які не знижують наукової та практичної цінності роботи:

1. В огляді літератури бажано було б акцентувати увагу на механізмах передачі генетичної інформації за умов йододефіциту.

2. У розділі «Матеріал і методи дослідження» можна було не описувати методику визначення біохімічних показників, при визначенні яких використовувались стандартні тест-системи, адже вони вказані в інструкції виробника. Достатньо було посилань на фірму виробника.

3. У 3 та 4 розділах в окремих випадках достовірна розбіжність вказана до двох або трьох цифрових значень одночасно (стор. 70, 72, 87). Більш доцільно вказувати похибку біля кожного цифрового показника.

Вказані зауваження не мають принципового характеру і не впливають на науково-методичний рівень дисертації.

При аналізі дисертаційної роботи виникли питання, які потребують уточнення і на які хотілося б почути відповідь дисертанта:

1. Які процеси призводять до порушення тиреоїдного гомеостазу у тварин з інсулінорезистентністю?

2. Вами показано, що при навантаженні фруктозою йододефіцитних тварин ризик розвитку інсулінорезистентності суттєво зростає, особливо у самців. Як Ви пояснюєте цей факт?

3. Чим обумовлена активація процесів пероксидації білків та ліпідів у інсулінорезистентних щурів за умов йододефіциту у печінці та підшлунковій залозі тварин?

4. Яку мету Ви переслідували, досліджуючи вміст нітрит-іона в сироватці крові?

5. Між якими досліджуваними показниками в інсулінорезистентних тварин за умов вродженого і набутого йододефіциту Ви встановили найбільш суттєві розбіжності ?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Стецев'ята Василя Богдановича «Тиреоїдний статус, метаболічні процеси та їх гендерні особливості за умов йододефіциту й інсулінорезистентності в експерименті» є самостійною завершеною науковою працею, у якій на високому рівні наведено нове вирішення актуальної в галузі фізіології наукової задачі щодо встановлення механізмів зміни тиреоїдного гомеостазу, маркерів вуглеводного та ліпідного обміну, перебігу окисно-відновних реакцій в інсуліночутливих органах, протирадикального захисту, структурно-метаболічних змін печінки експериментальних тварин за умов інсулінорезистентності на тлі навантаження фруктозою та йододефіциту в одному і двох поколіннях тварин з урахуванням статевого диморфізму.

Наукові положення та висновки, що представлені в роботі, є новими, результати досліджень у повному обсязі представлені у наукових працях та впроваджені у навчальний процес профільних кафедр закладів вищої освіти.

За актуальністю обраної теми, обсягом та науково-методичним рівнем досліджень, науковою новизною, теоретичною та практичною цінністю результатів, об'єктивністю та обґрунтованістю висновків дисертація Стецев'ята Василя Богдановича «Тиреоїдний статус, метаболічні процеси та їх гендерні особливості за умов йододефіциту й інсулінорезистентності в експерименті» повністю відповідає вимогам п. 11 Постанови Кабінету Міністрів України «Порядок присудження наукових ступенів» від 24.07.2013 р. №567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. і №1159 від 30.12.2015 р.), Наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 - нормальна фізіологія.

ОФІЦІЙНИЙ ОПОНЕНТ:

завідувач кафедри біологічної хімії

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

О.Я. Складаров



Підпис: проф. Складарова О.Я.

ЗАСВІДЧУЮ
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР
Львівського національного
медичного університету
ім. Данила Галицького

(Яценко С.Я.)