

**ВІДГУК**  
**офіційного опонента члена-кореспондента НАН України,**  
**доктора медичних наук, професора**  
**Сагача Вадима Федоровича**  
**на дисертаційну роботу Кондро Мар'яни Миронівни**  
**„Механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального**  
**ожиріння різного генезу та його корекція”,**  
**подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д.26.551.01**  
**при Державній установі “Інститут геронтології**  
**імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України” на здобуття наукового**  
**ступеня доктора медичних наук**  
**за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія.**

**Актуальність теми дисертації.**

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НЖХП) належить до найпоширеніших хвороб у світі. В останні роки популярним став вираз: «НЖХП – печінковий прояв цукрового діабету 2 типу». Зважаючи на те, що цукровий діабет набув характеру пандемії, то говорячи про поширеність НЖХП, ми сміливо можемо говорити про пандемічний характер її поширення. Добре відомі причини зростання захворюваності на НЖХП: малорухливий спосіб життя на тлі іжі з високим вмістом вуглеводів і жирів, неконтрольоване споживання глутамату натрію як харчової добавки, захворювання на цукровий діабет 2 типу, ожиріння і т.д. Доведено, що неалкогольний стеатогепатоз ускладнює перебіг коронавірусної інфекції.

Не дивлячись на велику кількість робіт, присвячених структурно-функціональному стану печінки за умов розвитку стеатогепатозу, проблема залишається відкритою, тим паче, що є ряд робіт, в яких переконливо доведено розвиток стеатогепатозу у осіб без діабету і ожиріння. Це є причиною відсутності широкого ряду ефективних гепатопротекторів, хіба що гептрапал – дорогий препарат іноземного виробництва.

Дисертаційна робота М. М. Кондро саме і присвячена з'ясуванню структурно-функціонального стану печінки у щурів на тлі стандартної і високо-калорійної дієти, а також у щурів після неонатального введення глутамату натрію і як можна нормалізувати цей стан шляхом курсового введення мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію, який володіє антиоксидантною і пребіотичною дією. Таким чином, обраний дисертантом науковий напрямок і тема дослідження актуальні і важливі для нормальної фізіології та гастроентерології.

**Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.**

Зв'язок роботи з науковими програмами, що виконуються в Львівському національному медичному університету імені Данила

Галицького, простежується чітко. Дано робота виконувалася в рамках комплексних наукових досліджень, які проводилися на кафедрі нормальній фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького з 2012 по 2020 рр. Автор є виконавцем цих робіт.

### **Структура та обсяг дисертації, оцінка її змісту**

Дисертація має традиційну структуру, вона викладена на 385 сторінках комп'ютерного тексту (обсяг основної частини – 310 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень з їх обговоренням, розділу “Заключення”, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Дисертація добре ілюстрована і документована, містить 50 таблиць і 95 рисунків.

У вступі чітко визначено актуальність наукового напряму і теми дисертаційного дослідження, обґрунтовано мету і основні задачі роботи, показано наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, їх апробацію та впровадження в практику.

В огляді літератури (розділ 1) детально охарактеризовано фізіологічні аспекти функціонування печінки за умов норми та розвитку стеатогепатозу, розглянуто регуляторні ефекти серотоніну та його роль у процесах розвитку ожиріння, обґрунтовано важливу роль печінки в забезпеченні адаптаційних реакцій організму до високо-калорійної дієти і підтриманні гомеостазу. Особлива увага відведена механізмам розвитку стеатогепатозу різного генезу та можливості його корекції. Авторка гарно описала властивості та перспективи застосування в медицині нанокристалічного діоксиду церію та запропонувала його в якості засобу профілактики і лікування стеатогепатозу. Дуже гарно описана кишкова мікробіота, її роль у метаболізмі енергії та можливість застосування пробіотичних штамів у профілактиці і лікування стеатогепатозу. Підводячи підсумок, дисертант обґрунтует обраний напрямок і мету дисертаційної роботи.

У методичному розділі дуже гарно описана схема експериментальних досліджень та обґрунтовано застосування вибраних моделей ожиріння. В роботі застосовано широкий спектр різних методів, які повністю відповідають поставленій меті та задачам. При використанні загальноприйнятих методик, дисертантка наводить посилання на авторів. А за наявності модифікацій або наведення умов експерименту (як у випадку визначення експресії генів), методики розписані достатньо конкретно для можливості їх відтворення.

Третій і четвертий розділи дисертації присвячені структурно-функціональному стану гепатоцитів щурів за умов розвитку ожиріння, викликаного високо-калорійною дієтою (розділ 3) та неонатальним введенням глутамату натрію (розділ 4). Автором встановлено, що незалежно від індуктора ожиріння у щурів розвивається стеатогепатоз,

який був підтверджений кількома методами. Виявлені нові ланки механізму розвитку стеатогепатозу. Особливо важливими є нові результати, встановлені на щурах за умов розвитку стеатогепатозу різного генезу : 1. встановлення функціонування системи серотоніну в мозку, сироватці крові та дванадцятипалій кишці; 2. дослідження жовчосекреторної функції печінки; 3. дослідження експресії генів, залучених у розвиток запалення та фіброзу; 4. концентрація цитокінів у сироватці крові та цитоморфологічний стан селезінки.

Наступні два розділи присвячені мультипробіотику «Симбітер ацидофільний» концентрований (розділ 5) і нанокристалічному діоксиду церію (розділ 6) як засобам профілактики стеатогепатозу, індукованого глутаматом натрію. Зважаючи на те, що зміни у структурно-функціональному стані печінки після неонатального введення глутамату натрію були більш вираженими, ніж у щурів, які перебували на високо-калорійній дієті, можна прогнозувати, що запропоновані засоби профілактики будуть ефективними і прі стеатогепатозі іншого генезу. Більшість показників, які характеризують структурно-функціональний стан печінки мультипробіотик відновлював або наближав до рівня інтактного контролю. Нанокристалічний діоксид церію також спроявляв позитивний вплив, але дія його була слабшою.

В заключному розділі дисертант узагальнює отримані результати, акцентуючи увагу на їх науковій новизні та практичній значимості. Зроблені висновки і практичні рекомендації чітко аргументовані і конкретні, повністю відповідають змісту, меті та задачам проведеного дослідження.

### **Новизна одержаних результатів.**

Науковою новизною є отримані дані, що розкривають нові ланки регуляції структурно-функціонального стану печінки за участю серотоніну та факторів, що викликають запалення і розвиток фіброзу у щурів, що перебували на стандартній дієті та після неонатального введення глутамату натрію. Порівнюючи групи щурів, які перебували на високо-калорійній дієті та після неонатального введення глутамату натрію, автор довела їх негативний вплив на структурно-функціональний стан печінки, а також показала, що зміни в гепатоцитах та в печінці в цілому більш виражені в групі щурів після неонатального введення глутамату натрію.

Вперше досліджено показники серотонінового обміну у головному мозку, дванадцятипалій кишці та в сироватці крові щурів після неонатального введення глутамату натрію. Встановлено зниження вмісту серотоніну та триптофана в тканині мозку, яке не пов'язано зі зміною активності триптофан-гідроксилази та триптофан-декарбоксилази у щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом. Активність моноамінооксидази та індоламін 2, 3-диоксигенази в мозку щурів зростала, що вказує на активацію альтернативного кінуренінового шляху

метаболізму серотоніну в мозку. Вперше встановлено односпрямовані зміни в концентрації серотоніну, триптофану та моноамінооксидазної активності в мозку і сироватці крові у щурів з глутамат-індукованим СГ. Доведено активацію серотонінового шляху метаболізму серотоніну в дванадцятипалій кишці, що свідчить про зменшення індоламін 2,3-диоксигеназної та триптофан-гідроксилазної активності на тлі незміненої триптофан-декарбоксилазної активності в гомогенаті дванадцятипалої кишки щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом.

Вперше встановлено, що у щурів за умов дієт- і глутамат-індукованого стеатогепатозу зменшується маса селезінки та кількість спленоцитів, що спричинює дисфункцію імунної системи, зокрема дисбаланс вмісту про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові.

Новими є дані щодо посилення суттєвих змін холерезу та жовчокислотного складу жовчі у щурів за умов дієт-індукованого стеатогепатозу, що свідчить про активацію альтернативного шляху біосинтезу жовчних кислот. У щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом холерез зменшується і суттєво змінюється спектр холатів в жовчі, що характеризує зростання активності холестерол-7-а-гідроксилази, за участі якої відбувається синтез холевої кислоти класичним, тобто нейтральним шляхом.

Вперше доведено корегуючий вплив періодичного введення мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований або нанокристалічного діоксиду церію на показники серотонінового обміну у головному мозку, сироватці крові та дванадцятипалій кишці, цитоморфологічний стан селезінки та баланс про- та протизапальних цитокінів у сироватці крові, жовчосекреторну функцію печінки та склад холатів у жовчі щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом.

Вперше підтверджено, що в гепатоцитах щурів із глутамат-індукованим стеатогепатозом суттєво зростають рівні експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf*, що свідчить про розвиток фіброзу та запального процесу в печінці. Під впливом періодичного введення мультипробіотика або нанокристалічного діоксиду церію відбувається відновлення експресії мРНК генів *Tgfb1*, *Ptgs2* та *Hgf* до рівня експресії у гепатоцитах інтактного контролю.

Наукова новизна підтверджується виступами на міжнародних конференціях, для участі в яких роботи піддаються ретельному рецензуванню. Так, наприклад, для участі в об'єднаному європейському гастроenterологічному тижні роботу рецензують 5 експертів. Лише за наявності абсолютної новизни та позитивної оцінки всіх експертів автор запрошується з усною або постерною доповіддю. Робота пройшла апробацію і на інших на дуже престижних міжнародних профільних наукових форумах: 50-й щорічній конференції Європейської асоціації дослідження печінки «The International Liver Congress», монотематичній конференції Європейської асоціації дослідження печінки «Microbiota,

Metabolism and NAFLD», Фальк симпозіумі 205 «New Treatment Targets in Gut and Liver Diseases» та багатьох інших.

### **Практичне значення результатів дослідження.**

Автором доведена ефективність нанокристалічного діоксиду церію у профілактиці стеатогепатозу на тлі вісцерального ожиріння у щурів, викликаного глутаматом натрію. Ці результати дозволяють рекомендувати розширити доклінічні дослідження нанокристалічного діоксиду церію з метою створення в майбутньому нового гепатопротектора.

Практичне значення роботи заключається і в чіткому визначені доцільності призначення і режимів дозування мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований для корекції функціональної активності печінки та профілактики і лікування стеатогепатозу різного генезу.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені у навчальний процес і наукову роботу кафедри патологічної фізіології ЛНМУ імені Данила Галицького, кафедри фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата Буковинського державного медичного університету, кафедр фізіології з основами біоетики та біобезпеки і медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри біологічної та біоорганічної хімії Української медичної стоматологічної академії та кафедри фундаментальної медицини ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

За результатами дослідження отримано 1 патент України на корисну модель та 2 свідоцтва на раціоналізаторську пропозицію.

Використання мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрованого як засобу профілактики стеатогепатозу впроваджено у лікувальний процес КНП ЛОР Львівської обласної клінічної лікарні, КНП ЛОР Львівської обласної дитячої клінічної лікарні «Охматдит» та КНП ЛОР Львівської обласної інфекційної клінічної лікарні.

### **Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Представлена дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням.

Достовірність основних наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих автором у дисертації, забезпечені вірно обраними методологією та методами проведення досліджень.

Дослідження проведені на достатній кількості тварин з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації (Всесвітня медична асамблея, 1964) та інших

міжнародних документів, а також Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Основні наукові положення дисертації, висновки та практичні рекомендації випливають безпосередньо з результатів проведених досліджень, які були виконані дисертантом особисто. Робота відзначається ретельністю виконання, методично вірним рішенням проблеми. Отримані дані опрацьовані за допомогою параметричних методів і мають достовірний характер. Всі висновки і практичні рекомендації аргументовані.

### **Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.**

Основні результати, наукові положення та висновки викладені в 53 опублікованих працях, із них 27 статей (15 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України; 8 статей – в іноземних виданнях, серед них 7 статей, включених до наукометричної бази даних Scopus; 4 статті в інших наукових виданнях України) та 23 тези – у матеріалах конференцій, симпозіумів та конгресів. Автором отримано 1 патент України на корисну модель, та 2 свідоцтва на раціоналізаторську пропозицію.

Зміст автореферату, основні положення, висновки та практичні рекомендації повністю відповідають дисертації.

Матеріали кандидатської дисертації у написанні докторської не використовувались.

### **В процесі ознайомлення з дисертацією виники деякі непринципові зауваження, а саме:**

1. Робота перевантажена патофізіологічними твердженнями при тому, що дисертація присвячена функціонуванню печінки на різних рівнях за умов як норми, так і патології. Насамперед норми. Це і функціонування системи серотоніну, і експресія генів, і жовчосекреторна функція печінки, і мітохондріальне дихання і т.д.
2. Зустрічаються окремі невдалі стилістичні вирази.
3. Коли автор робить висновок про доцільність застосування мультипробіотика для профілактики і лікування стеатогепатозу різного генезу, слід було все ж підкреслити, що неалкогольну природу стеатогепатозу.

### **При рецензуванні роботи також виники деякі питання:**

1. Чому для профілактики стеатогепатозу, індукованого глутаматом натрію було обрано саме нанокристалічний діоксид церію? Ми розуміємо, що він є потужним антиоксидантом. Але ж є цілий ряд інших речовин природного походження з антиоксидантною дією, наприклад, мелатонін або вітаміни Е, С. До того ж вони зареєстровані.
2. Чи була необхідність у використанні такої великої кількості тварин?

3. Чим Ви можете пояснити різницю у функціонуванні ЕТЛ у внутрішній мембрани мітохондрій гепатоцитів щурів, які перебували на високо-калорійній дієті і у щурів після неонатального введення глутамату натрію?

4. Чому профілактичну дію мультипробіотика і нанокристалічного діоксида церію досліджували ліше на моделі стеатогепатозу, викликаного неонатальним введенням глутамату натрію?

Однак викладені питання і зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

## **Відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертація Кондро Мар'яни Миронівни „Механізми розвитку стеатогепатозу за умов вісцерального ожиріння різного генезу та його корекція”, що подана в спеціалізовану вчену раду Д.26.551.01 при ДУ “Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України” для офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук, є завершеною оригінальною самостійною науковою роботою, що вирішує наукову проблему фізіології, а саме висвітлення структурно-функціонального стану печінки у щурів, які тривало перебували на високо-калорійній дієті та після неонатального введення глутамату натрію, механізмам розвитку стеатогепатозу і з'ясуванню ефективності шляхів корекції мультиштамним пробіотиком та нанокристалічним діоксидом церію як перспективного напряму профілактики стеатогепатозу різного генезу.

За актуальністю теми дослідження, новизною, теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, об'ємом виконаних досліджень, адекватним методичним рівнем, достатністю й повнотою опублікування матеріалу, апробації на наукових форумах різного рівня дисертація відповідає вимогам пункту 10 "Порядку присудження наукових ступенів" ВАК України, який затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 щодо докторських дисертацій, а її автор заслуговує наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю "нормальна фізіологія" - 14.03.03.

Завідувач відділу фізіології кровообігу  
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,  
член-кореспондент НАН України,  
доктор медичних наук, професор

Сагач В. Ф.

