

РЕЦЕНЗІЯ

провідного наукового співробітника лабораторії біології стовбурових клітин
Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України,

доктора біологічних наук

Акопової Ольги Валеріївни

на дисертаційну роботу

Денисової Майї Володимирівни

«МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ТА ПОПЕРЕДЖЕННЯ

ДОКСОРУБІЦИНІНДУКОВАНОГО ПОШКОДЖЕННЯ СЕРЦЯ»,

представлену на спеціалізовану вчену раду ID 5867 Інституту фізіології ім.

О.О. Богомольця НАН України, для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність теми дисертаційної роботи.

Доксорубіцин – антибіотик антрациклінового ряду найбільш застосовуваний у терапії онкозахворювань, особливо в післяопераційний період. Попри досить високу ефективність в подоланні карциногенезу, даний препарат має широкий спектр побічної дії, що призводить до тяжких ускладнень та ризиків щодо одужання пацієнтів. Застосування доксорубіцину, зокрема має цілий ряд кардіотоксичних ефектів і призводить до кардіоміопатії, що проявляється в аритміях, серцевій недостатності, тощо, і спричиняє високий рівень смертності (50%) онкохворих після призначення доксорубіцинової хеміотерапії, причому найбільш уразливою категорією пацієнтів є діти.

Тому нагальним завданням сучасної медицини є пошук шляхів запобігання побічним ефектам застосування доксорубіцину, зокрема кардіотоксичним. Одним із стратегічних напрямків терапії, спрямованої на усунення кардіотоксичних наслідків дії доксорубіцину, є створення та застосування препаратів, спрямованих на покращення серцевої діяльності за умов сумісного застосування з доксорубіцином. Серед таких препаратів, які пройшли перевірку лабораторними випробуваннями, є фторвмісний неселективний активатор КАТР каналів флокалін. Відомо, що активатори КАТР каналів, через активацію цих каналів, присутніх в плазмалемі та мітохондріях, здійснюють цілий ряд функціональних ефектів, що мають наслідком антиоксидантну та антиапоптозну дію: знижують цитозольний та внутрішньомітохондріальний рівень Ca^{2+} , запобігають утворенню АФК і пригнічують активність неселективного мітохондріального каналу mPTP, відкриття якого є одним з безпосередніх чинників апоптозу.

За даними літератури, доксорубіцин, потрапляючи до організму, переважно накопичується в мітохондріях, що призводить до стрімкого зростання продукції

накопичується в мітохондріях, що призводить до стрімкого зростання продукції АФК, стимуляції відкриття mPTP, мітохондріальній дисфункції, роз'єднанню дихального ланцюга та зниженню ефективності синтезу АТФ, що має призводити до збільшення кисневої вартості роботи серця, а також - до індукції мітохондріального шляху апоптозу, або некрозу за умов вичерпання пулу АТФ. Отже, одночасне з доксорубіцином застосування препаратів, спрямованих на запобігання мітохондріальній дисфункції та пригнічення активності МРТР має запобігати кардіотоксичній дії доксорубіцину.

Сказаним визначається актуальність теми дисертації, метою якої є розробка наукових та методичних засад терапевтичної стратегії сумісного застосування доксорубіцину та активатора КАТР каналів флокаліна, спрямованої на усунення кардіотоксичних ускладнень доксорубіцинової хеміотерапії.

Наукова новизна отриманих результатів, теоретичне та практичне значення дослідження.

Кардіотоксичні ефекти доксорубіцину досить широко висвітлювались в літературі. Втім менше уваги приділялось висвітленню механізмів кардіотоксичної дії саме на рівні мітохондрій, продукції АФК, АФА і H_2S та відкриття mPTP. Відомо, що мітохондрії, завдяки наявності mtNOS та системи синтезу H_2S , здатні приводити в дію механізми і продукувати чинники запобігання відкриття mPTP та індукції апоптозу.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що вперше проведено комплексне дослідження функцій міокарда на біохімічному, функціональному та ультраструктурному рівні і запропоновано підхід ефективного запобігання кардіотоксичних ефектів доксорубіцину шляхом його сумісного застосування з активатором КАТР каналів флокаліном.

Вперше визначено ряд біохімічних механізмів, що обумовлюють кардіотоксичність доксорубіцину, зокрема, на рівні мітохондрій, які є однією з основних мішеней доксорубіцину. Досліджено руйнівний вплив доксорубіцину на мітохондріальний метаболізм, дисфункцію конститутивної cNOS, порушення синтезу NO, H_2S , редокс балансу та окисного стану мітохондрій. продукцію АФК, АФА і ПОЛ. Введення доксорубіцину на моделі щурів *in vivo* призводить до збільшення продукції АФК, пригнічення конститутивної NO-синтази (cNOS), активації індукцибельної NO синтази (iNOS), зменшення продукції H_2S . На тлі інтенсифікації прооксидантних процесів посилюється пероксидація ліпідів і утворення продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів та МДА. Наслідком оксидативного стресу та підвищення рівня АФК є активація неселективного мегаканалу mPTP, триггеру індукції апоптозу.

На функціональному рівні встановлено, що введення доксорубіцину призводить до сповільнення частоти серцевих скорочень, погіршення

провідності міокарда та ефективності його роботи, систолічної дисфункції, виснаження компенсаторних механізмів та появи ознак гострої ішемії на кардіограмі. Дисфункція міокарда супроводжується погіршенням ендотелійзалежної релаксації судин, показаним на судинних препаратах аорти. На ультраструктурному рівні введення доксорубіцину призводить до ушкодження мітохондрій та міофібрилярного апарату.

Вперше встановлено, що сумісне з доксорубіцином введення флокаліну відновлює редокс баланс мітохондрій, пригнічує оксидативні процеси і знижує активність mPTP до контрольного рівня. На рівні біохімічних механізмів активація КАТР каналів призводить до пригнічення iNOS, відновлення продукції H₂S та активності cNOS до контролю, зниження продукції АФК і ПОЛ, що, в свою чергу, призводить до пригнічення mPTP, активність якої критично залежить від рівня оксидативного стресу кардіоміоцитів.

На функціональному рівні вперше показано, що сумісне застосування доксорубіцину та флокаліну запобігає хронотропній дисфункції серця, призводить до відновлення показників його насосної та систолічної функцій, відновлює механізми ендотелійзалежної релаксації судин, вірогідно, за рахунок відновлення біохімічних механізмів регуляції функцій серцево-судинної системи: конститутивного біосинтезу NO, синтезу H₂S, пригнічення оксидативного стресу та зменшення провідності mPTP. Відновлення функцій міокарда підтверджується морфологічними дослідженнями, які показали, що одночасне застосування флокаліну і доксорубіцину призводить до посилення мітохондріального біогенезу і запобігає руйнуванню міофібрилярного апарату серця.

Теоретичне і практичне значення роботи. Одержані результати мають як фундаментальне теоретичне, так і практичне значення. В теоретичному плані вперше висвітлено біохімічні та функціональні механізми, які є підґрунтям доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії, запропоновано та обґрунтовано методичний підхід до їх усунення шляхом одночасного введення активатора КАТР каналів флокаліну. Практичне значення роботи полягає в тому, що введення доксорубіцину разом з флокаліном має наслідком усунення кардіотоксичної дії доксорубіцину, отже, може бути запропоновано в якості методичного підходу до усунення кардіотоксичних ефектів доксорубіцину в клініці.

Отже, вперше на підставі комплексного дослідження запропоновано і методично обґрунтовано сумісне застосування флокаліну та доксорубіцину для попередження гострої дисфункції міокарда і доксорубіцинзалежної кардіоміопатії. Даний підхід може бути покладений в основу терапевтичної стратегії, яка базується на доксорубіциновій хіміотерапії онкозахворювань з метою подолання кардіотоксичних ускладнень дії доксорубіцину.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи

Робота М.В. Денисової базується на сучасних методичних засадах, виконана із застосуванням сучасних наукових методів і новітніх наукових підходів. Автор застосовує поєднання біохімічних методів із функціональним та морфологічним дослідженням міокарда за дії доксорубіцину і його спільного застосування з флокаліном. Висновки роботи логічно витікають з одержаних автором експериментальних даних і підтверджуються результатами статистичного аналізу. Отже, можна відзначити високий ступінь обґрунтованості і достовірності результатів, одержаних в роботі. Також основні матеріали дисертації були представлені на чисельних фахових наукових конференціях і пройшли апробацію шляхом опублікування друкованих праць в фахових міжнародних наукових виданнях.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами ІФ ім. О.О. Богомольця НАН України

Робота виконана у тісному поєднанні з науковою програмою, планами і темами, затвердженими науковою радою ІФ ім. О.О. Богомольця НАН України. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця докладно висвітлено у вступній частині дисертації.

Опрацьованість літературних джерел

Автор демонструє добру освіченість і знайомство з сучасною науковою літературою за тематикою дисертації. Огляд літератури справляє дуже позитивне враження. Дисертантка опрацювала значний об'єм літературних джерел і фактологічного матеріалу. В огляді літератури докладно висвітлено фармакологічні властивості доксорубіцину, механізми його протипухлинної дії, побічні ефекти застосування доксорубіцину, а також відомі на даний час механізми кардіотоксичної дії доксорубіцину на рівні клітин (кардіоміоцитів) та мітохондрій (оксидативний та нітрозативний стрес, фероптоз, активація вільнорадикальних процесів, індукція відкриття мітохондріального неселективного мегаканалу mPTP в стані високої провідності та ін.). На підставі літературних джерел показано, що мітохондрії є однією з основних мішеней дії доксорубіцину, з чого витікає необхідність дослідження дії доксорубіцину на метаболізм мітохондрій, продукцію АФК, АФА і H₂S. Висвітлено кардіопротекторні механізми дії активаторів KATP каналів.

Автор дотримується наукового стилю у викладенні матеріалу. Викладення не має суттєвих граматичних або термінологічних недоліків, є досить стислим і логічним. Викладення літературного фактажу логічно підводить до формулювання мети і завдання дослідження. За об'ємом огляд літератури

відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Відповідність встановленим вимогам щодо оформлення дисертації

Дисертаційна робота за структурою та змістом відповідає сучасним вимогам до оформлення дисертаційних робіт. Вона складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів, результатів досліджень та їх обговорення, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та списку використаної літератури, що включає в себе 361 найменувань. Основний текст роботи викладено на 126 сторінках. Загальний обсяг роботи складає 158 сторінок. Результати проілюстровано 28 рисунками та 7 таблицями. Отже, структура, зміст дисертації, та її завершеність відповідають вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт, поданих до захисту на здобуття наукового ступеня – доктор філософії за спеціальністю 222 «Медицина» і 22 «Охорона здоров'я».

Викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях

Основні положення дисертації, її методичні напрацювання, теоретичні і практичні висновки викладені в наукових публікаціях автора. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, зокрема 3 публікації у наукових фахових виданнях України категорії А, що включені до наукометричної бази Scopus. Також опубліковано 9 тез доповідей на наукових вітчизняних та зарубіжних конференціях. Відповідно до п.8 Постанови КМУ № 44 від 12 січня 2022 року, враховано кількість 3.0 публікацій, у яких висвітлені результати дисертаційної роботи.

Запитання та зауваження до дисертації

Попри досить повне висвітлення теми дисертації відповідно до поставлених задач, я маю наступні зауваження до роботи.

1. Наслідки прямих механізмів дії флокаліну обумовлені дією на сарколемальний КАТР канал чи на мітохондріальний? Для цього бажано було б залучати селективні інгібітори КАТР каналів. Дія флокаліну не порівнюється з дією відомих фармакологічних активаторів КАТР каналів (пінацидїл).

2. Не виявлено вплив доксорубіцину та флокаліну на eNOS та iNOS міокарда і судин, а роль mtNOS в регуляції функцій серця є скоріш гіпотетичною. Такі показники, як АФК, H₂S, ПОЛ визначались лише в мітохондріях, хоча доцільніше було б виявити зміни цих показників також в тканині серця (або провести паралельне дослідження на серці і мітохондріях).

3. Визначення чутливості mPTP до Ca²⁺ має ряд недоліків, зокрема: порівняння має бути проведене за умов однакового входу Ca²⁺, проте активація

говорити не про зниження чутливості пори за дії флокаліну, а про збільшення порогових концентрацій Ca^{2+} для відкривання пори за дії активатора КАТР каналів.

4. Незначні зауваження: 1) відсутня структурна формула флокаліну; 2) відсутні посилання на міжнародно визнаних вчених, які внесли найбільший вклад у розуміння властивостей і функцій mКАТР каналу та механізмів кардіопротекторної дії його активаторів (K.D. Garlid, A. Szewczyk).

Втім, зазначені зауваження не мають принципового характеру і ніякою мірою не піддають сумніву і не знижують теоретичну і практичну цінність наукових здобутків автора.

Висновок.

На підставі вищезазначеного вважаю, що дисертаційна робота **Денисової Майї Володимирівни «Механізми розвитку та попередження доксорубіциніндукованого пошкодження серця»**, яка подана на здобуття ступеня доктора філософії за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та оформленням повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. (зі змінами згідно з Постановою КМУ від 21.03.2022 № 341), відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової програми «Медицина» (Патологічна фізіологія) третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у галузі 22 «Охорона здоров'я» зі спеціальності 222 «Медицина», а її автор, Денисова М.В. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина».

Рецензент:

провідний науковий співробітник
лабораторії біології стовбурових клітин
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця,
доктор біологічних наук



О.В. Аكوпова

