

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

завідувача відділу фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії Державної установи «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ»,

доктора медичних наук, професора

Соловійова Анатолія Івановича

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»

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Серцево-судинні захворювання займають перше місце серед причин смертності пацієнтів у світі та є величезною проблемою для системи охорони здоров'я. Другою провідною причиною смерті серед хвороб людини є онкологія. Проте виживання після лікування раку покращується в останні десятиріччя, натомість кардіотоксичність як наслідок протипухлинної терапії стає основною проблемою, призводячи до розвитку кардіоміопатії та серцевої недостатності. Незважаючи на значну кількість доказів того, що антрацикліни можуть викликати серцево-судинні ускладнення, доксорубіцин залишається основним хіміотерапевтичним препаратом протокольного лікування як дітей, так і дорослих у всьому світі. Антрациклініндукована кардіотоксичність призводить до шлуночкової дисфункції у 38-45% пацієнтів, які отримали хіміотерапію, у тому числі може проявлятися у вигляді пізньої токсичної кардіоміопатії, пов'язаної з незворотнім ремоделюванням міокарда. Для пацієнтів, які страждають на термінальну стадію доксорубіциніндукованої серцевої недостатності, єдиним ефективним методом лікування залишається трансплантація серця. Отже, краще розуміння механізмів, які лежать в основі кардіотоксичності доксорубіцину, дасть змогу розробити методи попередження та лікування ранньої серцевої недостатності, яку він спричиняє.

Одним із прогресивних підходів до профілактики та лікування серцево-судинних захворювань є розробка та використання лікарських засобів на основі активації АТФ-чутливих калієвих каналів, які є потужним ендogenous захисним механізмом клітини у разі дефіциту енергії та центральною ланкою

кардіопротекції при ішемії-реперфузії міокарда. В останні роки велику увагу приділяють фторвмісним активаторам, потужні антиішемічні, вазодилататорні, антиоксидантні та кардіопротекторні властивості яких були показані в експериментах.

Дисертаційна робота Денисової М.В. присвячена вивченню механізмів пошкодження міокарда щурів доксорубіцином та ролі активації АТФ-чутливих калієвих каналів флокаліном у попередженні розвитку доксорубіциніндукованого ураження серця, а отже є вкрай актуальною.

2. Наукова новизна отриманих результатів, теоретичне та практичне значення дослідження.

У дисертаційній роботі Денисової М.В. сформульовано і обґрунтовано ряд положень та висновків, які відзначаються науковою новизною та мають теоретичну і практичну спрямованість. Здобувачем вперше встановлено, що введення флокаліну запобігає доксорубіциніндукованим проявам оксидативного стресу, проявляє потужний мембранопротекторний ефект, попереджає порушення конститутивного синтезу оксиду азоту, пригнічує Ca^{2+} -індуковане відкривання МП та інгібує її підвищену чутливість до індуктора кальцію у мітохондріях серця тварин. Вперше проведено комплексне кардіогемодинамічне та ЕКГ-дослідження щурів після одночасного використання препаратів та встановлено, що введення флокаліну на тлі дії доксорубіцину попереджало насосну та систолічну дисфункцію лівого шлуночка, а також порушення провідності й кровопостачання міокарда, зокрема, внаслідок запобігання розладу процесів скорочення-розслаблення артеріальних судин. Вперше виявлено, що одночасне введення препаратів запобігає порушенню мітохондріального біогенезу та руйнуванню міофібрилярного апарату у серці щурів. Отже, вперше показано попередження розвитку гострої токсичної доксорубіциніндукованої кардіоміопатії у щурів шляхом активації K_{ATP} -каналів флокаліном.

Отримані результати представляють як теоретичну (фундаментальну), так і практичну цінність. Результати комплексного дослідження функціональних та структурних проявів гострої доксорубіциніндукованої кардіоміопатії та механізмів, асоційованих з цими змінами, відносяться до фундаментальних відомостей щодо розвитку даної патології, розширюють існуючі уявлення про неї та обґрунтовують як можливість попередження, так і ризики прогресування ремоделювання міокарда з розвитком незворотної серцевої недостатності. Результати дослідження функціональних та структурних змін міокарда після введення флокаліну на тлі токсичної дії доксорубіцину вперше демонструють можливість попередження гострої доксорубіциніндукованої кардіоміопатії при відкриванні K_{ATP} -каналів та мають практичну цінність. Отримані результати

можуть бути використані для подальшого вивчення механізмів попередження розвитку токсичної кардіоміопатії, а також впроваджені у клінічну практику.

3. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи.

Отримані на достатній кількості тварин фактичні дані дисертаційної роботи Денисової М.В. є новими, а їх об'єктивність обґрунтована детальним аналізом стану досліджуваної проблеми у медицині та фізіології, теоретичними положеннями та статистичною обробкою отриманих результатів, позитивними результатами апробації основних положень дослідження та їх висвітлення у ряді опублікованих автором робіт. Дисертація відповідає спеціальності 222 Медицина. Зміст роботи висвітлює актуальну медичну проблему механізмів розвитку та попередження доксорубіциніндукованої кардіоміопатії.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до загального плану науково-дослідних робіт відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Роль мітохондріальних механізмів у розвитку та попередженні порушень серцево-судинної функції при старінні», 2019-2023 рр. (№ держреєстрації 0123U102876) та «Редоксзалежні механізми змін функціонування серцево-судинної системи при старінні та доксорубіциніндукованій серцевій недостатності», 2024-2026 рр. (№ держреєстрації 0124U001684).

5. Відповідність встановленим вимогам щодо оформлення: структура та зміст дисертації, її завершеність. Опрацьованість літературних джерел.

Представлена дисертаційна робота Денисової М.В. є завершеною науковою працею, складається з анотації, 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 найменування. Загальний обсяг роботи складає 158 сторінок, основний текст роботи викладено на 126 сторінках. Результати проілюстровано 28 рисунками та 7 таблицями.

Анотація дисертаційної роботи є достатньою за обсягом і відображає основні результати дослідження українською й англійською мовами.

У **вступі** автор подає актуальність, зв'язок дисертації з науковими програмами, мету, завдання, наукову новизну, апробацію, публікації, а також обсяг і структуру дисертаційної роботи.

У **Розділі 1** (Огляд літератури) у 11 підрозділах детально описано проблему доксорубіциніндукованої кардіоміопатії та сучасні концепції механізмів пошкоджуючої та протипухлинної дії доксорубіцину. Широко розкриті сучасні уявлення про структуру та функцію K_{ATP} -каналів, а також механізми, що є підґрунтям їхньої кардіопротекторної дії.

Розділ 2 (Матеріали та методи) містить детальний опис використаних методів. У дослідженнях було використано 150 щурів самців, що є оптимальною кількістю для такого дослідження з точки зору біоетики. Всі маніпуляції з тваринами проводились відповідно до законодавства. Дослідження отримало позитивну оцінку Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця, як відповідні вимогам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), та чинного законодавства України з питань охорони лабораторних тварин. Гостру доксокардіотоксичність відтворено дворазовим внутрішньоочеревинним введенням доксорубіцину у загальній дозі 15 мг/кг, активація K_{ATP} -каналів досягалася п'ятиразовим введенням флокаліну у загальній дозі 12,5 мг/кг. У дослідженні використовувалися біохімічні, інструментальні, фізіологічні та ультраструктурні методи. У дисертаційній роботі застосовано сучасні методи варіаційної статистики, з використанням однофакторного аналізу ANOVA за допомогою пакету прикладних програм GraphPad Prism 8 (США).

Розділ 3 дисертаційної роботи висвітлює результати дослідження, детально описані у 7 підрозділах, причому у підрозділах 3.1, 3.2 та 3.3 показані мітотоксичні, мембрано- та вазотоксичні механізми впливу доксорубіцину та їх попередження флокаліном, а в розділах 3.4, 3.5, 3.6 та 3.7 за допомогою лабораторно-інструментальних методів доводиться розвиток саме дилатаційної доксорубіциніндукованої кардіоміопатії та її попередження флокаліном.

У **заключному розділі** детально обговорено отримані результати та зроблено обґрунтовані висновки про механізми розвитку та попередження доксорубіциніндукованого пошкодження серця.

Висновки дисертаційної роботи відповідають поставленій у ній меті і завданням, їх кількість є відповідною – 7 висновків на 7 завдань. Дисертаційна робота оформлена відповідно до вимог наказу МОН України від 12 січня 2017 р. №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

6. Викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях.

Результати досліджень опубліковано у 12 наукових працях: зокрема 3 публікації у наукових фахових виданнях України категорії А, що включені до науково-метричної бази Scopus та 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.

7. Запитання та зауваження до дисертації.

1. Спочатку питання загального характеру. Доксорубіцин дійсно індукує фероптоз. Чи можна запобігти фероптозу більш простими і дешевими методами? Наприклад, за допомогою хелаторів заліза. Аналогічно, доксорубіцин призводить до дефіциту АТФ? Чи можливо як вплинути на цей процес якимись фармакологічними інтервенціями, відмінними від використовуваних Вами?
2. Що стосується власне флокаліну. Чому він був обраний як протектор? Механізми виборчого впливу флокаліну на мітохондріальні АТФ чутливі канали остаточно не доведені. Єдині 2 фундаментальні роботи були виконані в лабораторії Ярослава Шуби (2011 р.), але вони були виконані на глібенкламід чутливих серцевих сарколемальних АТР К каналах експресованих в НЕК 293? Чому ви обрали не діазоксид, молекулярні механізми дії (ММоА) якого вивчені набагато краще? Діазоксид прямо націлений на мітохондріальні, але не на сарколемальні КАТР-канали.
3. Чи враховували Ви, що пінацидил був заборонений FDA (США) для використання в США? Причина - збільшення смертності у хворих з гіпертонічною хворобою
4. Як пінацидил, так і флокалін є активаторами АТФ залежних калієвих каналів. Отже, при дії на бета клітини підшлункової залози вони повинні гальмувати звільнення інсуліну. Чи може це якось вплинути на рівень глюкози крові у ваших дослідках?
5. Чи скасовувалися позитивні ефекти флокаліну при дії блокаторів АТФ чутливих каналів, наприклад, глібенкламіду.? Чи посилювали вищезгадані сполуки ефекти доксирубіцину?
6. Єдина реальна перевага флокаліну перед пінацицилом – це зниження його токсичності. При цьому токсичність доксірубіцину не змінюється. Флокалін може лише мінімізувати шкідливі наслідки дії доксирубіцину. Чи не логічніше було б знизити токсичність самого доксирубіцину, уклавши його в ліпосоми або посадивши на тверді ліпідні наночастки?
7. Наступне питання пов'язане зі збільшенням амплітуди ацетилхолінового розслаблення під дією флокаліну. Чи є цей ефект дійсно ендотелій-залежним або він пов'язаний з прямою дією флокаліну на гладкі м'язи? Чому не було контролю за препаратами судин позбавленими ендотелію механічно чи ензиматично?

8. Загальний висновок.

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 та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про 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), вимогам до опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук, затверджених наказом МОН України № 1220 від 23 вересня 2019 року, вимогам щодо оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та 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 Майя Володимирівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

Завідувач відділу
фармакології клітинних сигнальних систем та
експериментальної терапії
ДУ «Інститут фармакології та
токсикології НАМНУ»,
доктор медичних наук,
професор

А.І. Соловійов

*Підпис А.І. Соловійова
Засвідчує*

Директор

