

ВІДЗИВ

офіційного опонента Чекмана Івана Сергійовича
на дисертаційну роботу Лінник Оксани Олександрівни

"Порушення мітохондріального апарату кардіоміоцитів при доксорубіцин-індукованому оксидативному стресі: механізми та корекція", поданої на здобуття вченого ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю патологічна фізіологія - 14.03.04

Актуальність обраної теми дисертації.

Як відомо, у людини оксидативний стрес є причиною або важливою складовою багатьох серйозних захворювань, таких як атеросклероз, гіпертензія, нейродегенеративні захворювання, діабет, а також є однією з складових процесу старіння. Виявлено зв'язок між мітохондріальними дисфункціями, а саме порушеннями в дихальному циклі, та аутизмом у дітей. Також наголошується, що при цьому зменшується здатність організму чинити опір певним інфекціям та імунній вакцинації. В свою чергу, інтенсифікація продукції кисневих радикалів активує реакції перекисного окиснення ліпідів, продукти якого можуть призвести до модифікації ліпідів, білків та ДНК клітини, що викликає зміни фізико-хімічних властивостей клітин та пошкоджень на рівні тканин та організму.

Активація вільно-радикального окиснення також є одним із провідних патогенетичних механізмів ушкодження серця антрациклінами - антибіотиками, які широко використовують при лікуванні пухлин, що на сьогоднішній день особливо актуально у зв'язку з великим зростанням серцево-судинної та онкологічної патології. Особливістю антрациклінів (зокрема, доксорубіцину) є те, що, крім характерних для переважної більшості цитостатиків побічних явищ, дані препарати мають значно виразнішу токсичну дію на серце і призводять до дисфункції міокарда, дилатаційної кардіоміопатії, розвитку серцевої недостатності. А враховуючи тенденцію до зростання кількості онкологічних захворювань, котрі лікуються

за допомогою антрациклінових антибіотиків, подальше дослідження їх дії та пошук методів фармакологічної та нефармакологічної кардіопротекції залишається надзвичайно необхідним. З метою фармакопрофілактики патології серцево-судинної системи та розладів кровообігу доцільним є застосування так званих кардіопротекторів — різноманітних фармакологічних та нефармакологічних засобів, які запобігають негативним змінам у серцевому м'язі, обумовленим застосуванням доксорубіцину.

Велике значення мають і молекулярні механізми адаптації до кисневої недостатності різного походження. Так, генетично обумовлені регуляторні механізми, які складають фундаментальну основу біологічної відповіді на гіпоксію, наразі активно досліджуються. Значним кроком у цій області було відкриття регуляторного кисеньчутливого протеїнового комплексу, який має транскрипційну активність — фактора, що індукується гіпоксією (hypoxia-inducible factor, HIF). HIF регулює широкий діапазон клітинних функцій, таких як гліколіз, еритропоез, ангиогенез, метаболізм заліза, ріст, диференціація клітин, апоптоз, активує гени, які формують цілий ряд адаптивних відповідей на зниження напруження кисню в клітині.

Тому тема дослідження порушень мітохондріального апарату кардіоміоцитів при доксорубіцин-індукованому оксидативному стресі та їх корекція, якій присвячена дисертаційна робота Лінник О.О., є безумовно актуальною та важливою.

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

Дисертаційна робота проведена на високому науково-методичному рівні, що дозволило виконати всі поставлені завдання. Експериментальні дослідження проведено на первинній культурі ізольованих кардіоміоцитів, виділених із шлуночків серця 50 новонароджених щурів лінії Вістар та 40 статевозрілих щурах-самках лінії Фішер. Завдання дисертації сформульовані автором чітко та послідовно. Комплекс методичних підходів, які були

використані в дисертації, видається адекватним цілям і завданням дослідження.

Дисертанткою було проведено моделювання і корекція куркуміном доксорубіцин-індукованого оксидативного стресу із застосуванням різних адекватних методів.

З використанням виділеної РНК та ДНК проведено полімеразну ланцюгову реакцію та досліджено зміни рівнів експресії різних кисень чутливих генів. До сучасних та інформативних методів дослідження відносяться визначення рівня мітохондріального мембранного потенціалу за допомогою флуоресцентних барвників та комплексне дослідження скоротливості кардіоміоцитів.

Таким чином, всі наукові положення, сформульовані у дисертації, видаються достовірними та логічними.

Новизна дослідження та одержаних результатів.

Лінник О.О. вперше провела розгорнуте дослідження функціональних порушень мітохондріального апарату кардіоміоцитів щурів *in vitro* та *in vivo* та їх корекції за допомогою куркуміну за умов доксорубіцин-індукованого оксидативного стресу у співставленні з показниками активності про- та антиоксидантної системи, а також експресії генів редокс-чутливих факторів транскрипції. Дисертантка довела зв'язок між HIF-залежними процесами та збільшенням загибелі кардіоміоцитів при дії доксорубіцину і встановила молекулярно-генетичні шляхи корекції доксорубіцин-індукованої мітохондріальної дисфункції в кардіоміоцитах за допомогою куркуміну.

В дисертації обґрунтовано застосування куркуміну в якості протектора при доксорубіцин-індукованому оксидативному стресі, що, без сумніву, є новими та важливими фактами. Вперше показано, що застосування куркуміну значно покращує електронтранспортну функцію мітохондрій, посилює спряженість й ефективність процесів дихання та фосфорилування, сприяє відновленню мембранного потенціалу мітохондрій і запобігає

порушенню скорочувальної активності клітин.

Практичне значення результатів дослідження.

Отримані дані відкривають нові перспективи в лікуванні ряду патологічних станів (онкологічні, нейродегенеративні, ішемічні захворювання тощо), тому що визначають механізми розвитку та корекції оксидативних порушень мітохондрій, що є частою причиною виникнення цих хвороб.

Дослідження молекулярних, генетично-детермінованих можливостей кардіопротекції може слугувати потенційно новим терапевтичним підходом до лікування хвороб людини, пов'язаних з оксидативним стресом різного генезу.

Результати дисертаційної роботи також можуть бути використані при викладанні фармакології та фармакотерапії у медичних вищих навчальних закладах.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Основні результати дисертаційної роботи Лінник О.О. викладені у 16 наукових працях, з яких 6 статей - у рекомендованих ДАК України фахових журналах та 10 тез доповідей на конгресах, з'їздах та конференціях. Робота апробована на міжнародних та вітчизняних наукових конгресах і конференціях. Автореферат повністю відображує основні положення дисертаційної роботи.

Аналіз вмісту дисертації

Робота побудована за загальноприйнятою схемою й містить усі необхідні розділи: анотацію, вступ, огляд літератури, опис методів досліджень, результати досліджень, аналіз й узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел літератури, що включає 217 посилань. Робота

викладена на 129 сторінках машинописного тексту, містить 2 таблиці, проілюстрована 28 рисунками. В огляді літератури ґрунтовно розглянуті фізіологія й патофізіологія мітохондрій, зокрема, зміни, що виникають при оксидативному стресі. Також розглянуто регуляцію оксидативного стану з акцентом на роль NIF. В розділах дано вичерпний опис застосованих методик й об'єктів дослідження. В розділі «Результати досліджень» ґрунтовно описані отримані результати, висвітлено дослідження функціонального стану мітохондрій й описано проєктивний вплив куркуміну.

Дисертація Лінник О.О. є закінченою науковою роботою, в якій отримані нові й актуальні наукові дані, що мають теоретичну та практичну значимість.

Запитання до дисертації і автореферату щодо їх змісту й оформлення.

Оцінюючи роботу цілком позитивно, у мене як опонента виник ряд запитань, які хотілося би обговорити з дисертантом у порядку дискусії:

1. Як визначалася конкретна доза куркуміну для досягнення проєктивного ефекту?
2. Я б розділяв вплив куркуміну на гострий та віддалений. Гострий – це антиоксидантні властивості і безпосередня взаємодія з доксорубіцином, якщо вона є. А віддалений - через експресію генів. Чи згодна дисертантка з таким поділом?
3. Куркумін, як всі біофлавоноїди, пригнічує активність протеасоми, а отже хоча експресія гену NIF і знижена, сам білок цілком може залишатися в клітині, бо протеасома пригнічена. Добре було б залучити до подальших досліджень методи блотінгу та вивчення активності протеасоми.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертація Лінник Оксани Олександрівни "Порушення мітохондріального апарату кардіоміоцитів при доксорубіцин-індукованому оксидативному стресі: механізми та корекція", що подана на здобуття вченого ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю патологічна

фізіологія - 14.03.04, є завершеним дослідженням, яке містить принципово нові науково обґрунтовані результати. За актуальністю теми, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням одержаних результатів дисертація повністю відповідає вимогам п.13 „Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань” МОН України, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Професор кафедри фармакології, клінічної фармакології

ПНВЗ «Київський медичний університет УАНМ»,

Член-кореспондент НАН і НАМН України

доктор медичних наук, професор



І.С.Чекман

25.01.2018 р.

*Фідусі заступник
Кашаповська*



Д. Фірайдмер