

ВІДЗИВ

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Лановенка Івана Івановича
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, оксидативний стрес є ланцюгом патогенезу цілого спектру захворювань, які визначають основну частину смертності та інвалідизації населення (від порушень функцій різних органів і систем до виникнення новоутворень). Причиною цього є неспецифічність ураження активними формами кисню клітинних структур. Саме тому дослідження порушень регуляції оксидативного статусу клітин є наразі актуальними й цінними.

Антибіотики антрациклінового ряду, одним з основних механізмів дії яких є індукція синтезу активних форм кисню, здійснюють пошкоджуючий вплив на всі внутрішньоклітинні структури, в тому числі мітохондрії. Ці антибіотики, зокрема доксорубіцин, широко використовуються в лікуванні онкологічних захворювань, причому одним з відомих ускладнень їх застосування є виникнення кардіоміопатій. З огляду на зростаючу кількість онкологічних захворювань дуже доречним і актуальним є зменшення ризиків, пов'язаних з їх лікуванням. В світлі цього, дослідження порушень мітохондріальних функцій є логічним і перспективним з огляду на їх функціональне значення саме в кардіоміоцитах, в основному, як джерела активних форм кисню. Іншою ланкою дії антрациклінів є інгібуючий вплив на антиоксидантні регуляторні механізми, зокрема, пов'язані з індукованим гіпоксією фактором (HIF). Однак HIF в клітині має різні ізоформи, що мають

певну функціональну різницю у реалізації відповіді на оксидативний стрес різного генезу, тому більш докладне вивчення їх активності й реакції на дію антрациклінів є цікавим, як можлива мішень для подальшого пошуку способів протекції кардіоміоцитів.

Отже, дисертаційну роботу Лінник О.О., метою якої є вивчення механізмів розвитку і корекції оксидативного стресу в кардіоміцитах й пов'язаних з цим змін в мітохондріях, а з іншого боку дослідження змін в активності NIF-залежної регуляції антиоксидантних механізмів, можна вважати актуальною, сучасною і перспективною.

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

Дисертаційна робота проведена на високому науково-методичному рівні, що дозволило виконати всі поставлені задачі. Завдання дисертації сформульовані автором чітко та послідовно. Комплекс методичних підходів, які були використані в дисертації, видається адекватним цілям і завданням дослідження.

Дисертанткою було змодельовано і підтверджено стан оксидативного стресу *in vitro* та *in vivo* і проведена його корекція куркуміном із застосуванням біохімічних, молекулярно-генетичних, цитологічних і біофізичних методів.

До сучасних і новітніх методів дослідження можна віднести визначення рівня потенціал-чутливого флуоресцентного компонента в мітохондріях за допомогою флуоресцентних барвників. А комплексне дослідження скоротливої активності кардіоміоцитів на клітинному рівні та у дорослих щурів досі в Україні не проводили.

На високому і сучасному рівні автор виконав генетичні дослідження: використовуючи РНК з ізольованих клітин і тканин серця, проведено зворотню

транскрипцію і полімеразну ланцюгову реакцію у реальному часі. Дані були піддані автором коректній статистичній обробці і ґрунтовному аналізу.

Таким чином, наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані у дисертації, видаються вірогідними та обґрунтованими.

Наукова новизна та теоретична цінність дослідження.

Автором було вперше проведено комплексне й ґрунтовне дослідження функціональної динаміки порушень мітохондріальних функцій за умов оксидативного стресу, індукованого доксорубіцином, а також експресії ряду генів-регуляторів оксидативного статусу мітохондрій та їх мішеней (HIF-1 α , HIF-3 α , PDK-1, IGF-1, TERT).

Встановлено інгібуючий ефект доксорубіцину на експресію саме HIF-1 α та його генів-мішеней в непухлинних клітинах (кардіоміоцитах).

Підтверджено протекторну дію куркуміну на мітохондрії кардіоміоцитів при доксорубіцин-індукованому оксидативному пошкодженні, а саме покращення функцій мітохондрій, процесів дихання, спряженості дихання з фосфорилуванням, величини мембранного мітохондріального потенціалу. Також, вперше показано відновлення скоротливої активності кардіоміоцитів при використанні куркуміну на фоні доксорубіцин-індукованого оксидативного стресу.

Загалом, отримані автором дані розширюють і дають нові теоретичні уявлення про механізми оксидативного ушкодження кардіоміоцитів, зокрема зміни функціонального й молекулярно-генетичного стану мітохондрій, а також дають уявлення про можливі шляхи його корекції.

Практичне значення результатів дослідження.

Отримані дані, які стосуються як механізмів оксидативного ураження, так і протекторного ефекту куркуміну, можуть бути застосовані при розробці нових

підходів і рекомендацій у лікуванні кардіоміопатій різного генезу. Результати дисертаційної роботи також можуть бути використані при викладанні патофізіології, фармакології, генетики та терапії у вищих медичних учбових закладах.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Основні результати дисертаційної роботи 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, на яких дана робота була достатньо апробована. Автореферат в повній мірі відображає основні положення дисертаційної роботи.

Аналіз вмісту дисертації.

Робота побудована за загальноприйнятою схемою й складається з: анотації, вступу, огляду літератури, опису методів досліджень, результатів досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел літератури, що включає 217 посилань. Робота викладена на 129 сторінках машинописного тексту, містить 2 таблиці, проілюстрована 28 рисунками.

В огляді літератури детально розглянуті фізіологія й патофізіологія мітохондрій, з окремим акцентом на генерацію активних форм кисню (АФК) й порушення, що виникають при оксидативному стресі; також розглянуто молекулярні механізми генерації активних форм кисню, а також NIF-залежну регуляцію оксидативного стану. Окремим пунктом винесено роль мітохондрій й оксидативного стресу в розвитку кардіоміопатій. В розділі “Матеріали й методи” дано вичерпний опис застосованих методик й об’єктів дослідження. В наступних розділах приводиться опис отриманих результатів щодо досліджень функціонального стану мітохондрій, молекулярно-генетичних механізмів і

протекторного ефекту куркуміну при моделюванні оксидативного стресу за допомогою доксорубіцину.

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

Недоліки й зауваження щодо змісту дисертаційної роботи.

Оцінюючи роботу цілком позитивно, хочу висловити деякі зауваження.

1. В роботі є незначна кількість друкарських помилок та невдалих висловів.
2. Наявні англійські аббревіатури і назви деякою мірою можна замінити на українські аналоги, прийняті в науковій літературі.

Однак, ці зауваження не стосуються суті роботи і мають, переважно, редакційний і рекомендаційний характер. Вони не занижують наукової та практичної цінності дисертаційної роботи.

Також, у мене виник ряд питань, котрі хотілося б обговорити з дисертантом у порядку дискусії.

1. Чому для дослідження про- та антиоксидантного балансу були вибрані саме ці показники, що визначаються автором? Чому не досліджували систему глутатіона?
2. Чому докладно не проаналізовано ряд факторів, які можуть викликати активацію різних видів АФК у кардіоміоцитах – дискоординацію електрон-транспортного ланцюга мітохондрій і мікросом, накопичення катехоламінів та їх попередників у міокарді, дисбаланс мікроелементів та ін.?
3. Як можна пояснити порушення скоротливої активності кардіоміоцитів та зміни кардіогемодинаміки внаслідок оксидативного стресу?

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.

Завідувач лабораторії патофізіології крові

Державної установи «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»

доктор медичних наук, професор



I.I. Lanovenko
І.І. Лановенко

