

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Мальченко Ольги Анатоліївни “Патогенетичне обґрунтування підходів до корекції пошкоджень тканин кінцівки при експериментальному реперфузійному синдромі”, подану в спеціалізовану вчену раду Д. 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

Актуальність обраної теми. Реперфузійне пошкодження кінцівок є одним з найпоширеніших патологічних станів, що розвиваються при порушенні периферичного кровообігу, тому встановлення патогенетичних механізмів розвитку синдрому ішемії-реперфузії і експериментальне обґрунтування підходів до корекції є актуальною науковою і практичною проблемою. При ішемії з реперфузією виникають ушкодження, патогенетичною основою яких є так званий «кисневий парадокс»: активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, яка приводить до порушень енергетичного обміну, активації протеаз, утворення прозапальних цитокінів та ушкодження тканин нижніх кінцівок. Дуже важливим є проведення комплексної оцінки стану протеолізу і вільнорадикального окиснення ліпідів на різних рівнях структурної організації (локальному і системному), яка дозволить виявити нові механізми пошкодження на клітинному і органному рівнях.

На сучасному етапі проводиться пошук найбільш активних та найменш токсичних лікарських засобів для підвищення ефективності профілактики та лікування синдрому ішемії-реперфузії. У доступній літературі відсутні відомості про ефективність поєднаного застосування антиоксидантів, інгібіторів протеїназ та аналогів природного простагландину E₁ для патогенетичної корекції синдрому ішемії-реперфузії.

В зв'язку з цим дисертаційна робота Мальченко О. А., присвячена

обґрунтуванню патогенетичних шляхів фармакологічної корекції реперфузійних ушкоджень шляхом вивчення стану процесів перекисного окиснення ліпідів і неспецифічних протеїназ та їх впливу на морфологічні та ультраструктурні зміни м'язової тканини кінцівок щурів при синдромі ішемії-реперфузії, є надзвичайно актуальною.

Новизна дослідження та одержаних результатів полягає в тому, що в результаті проведеної роботи встановлено роль протеолітичних і вільнорадикальних механізмів у патогенезі розвитку реперфузійного синдрому й експериментально обґрунтовані патогенетичні підходи до медикаментозної корекції зазначеної патології за допомогою поєднаного застосування антиоксидантів і інгібіторів протеїназ і аналогів природного простагландину E₁.

Уперше встановлено зміни неспецифічних протеїназ, їх інгібіторів, показників перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантів в гомогенатах м'язової тканини при експериментальному синдромі ішемії-реперфузії і зіставлені виявлені зміни з показниками в сироватці крові.

Уперше виявлено, що розвиток синдрому ішемії-реперфузії приводить до підвищення активності неспецифічних протеїназ і пригнічення інгібіторів в м'язовій тканині на тлі активації процесів перекисного окиснення ліпідів.

Уперше доведено, що максимальні зміни в м'язовій тканині розвиваються до 12-24 годин розвитку реперфузії і супроводжуються активацією неспецифічних протеїназ і їх інгібіторів в сироватці крові.

Уточнено наукові дані про ефективність вживання водорозчинної форми кверцетину, інгібітору протеїназ апротиніну і аналогу природного простагландину E₁ для корекції метаболічних змін при розвитку реперфузійного синдрому, що підтверджується зниженням рівня вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів і збільшенням рівня ендогенних антиоксидантів, зниженням протеолітичної активності і збільшенням рівня інгібіторів протеїназ в м'язовій тканині і на системному рівні.

Дістало подальший розвиток визначення системних змін в активності неспецифічних протеїназ і їх інгібіторів на моделі реперфузійного синдрому для розвитку синдрому системної запальної реакції, обґрунтовані підходи до діагностики та прогнозу його розвитку. Уточнено наукові дані про те, що ефективне блокування патогенетичних змін в ураженій тканині при розвитку реперфузії є ефективним механізмом профілактики розвитку системних ускладнень при синдромі ішемії-реперфузії.

Теоретичне значення результатів дослідження полягає в тому, що в результаті дослідження розширені наукові поняття про значення патогенетичних протеолітичних і вільнорадикальних механізмів розвитку місцевого пошкодження скелетної м'язової тканини при експериментальному синдромі ішемії-реперфузії, активація яких призводить до більш значних морфологічних та ультраструктурних змін в ушкодженій ділянці.

Розроблені і експериментально обґрунтовані підходи до підвищення ефективності фармакопрофілактики і фармакотерапії виявлених порушень. Одержані дані доповнюють і уточнюють існуючі і розкривають нові ланки патогенезу порушень в стані протеїназ-інгібіторної та вільнорадикальної систем, а також дозволяють довести актуальні підходи до медикаментозної корекції реперфузійного синдрому.

Практичне значення результатів дослідження полягає в тому, що експериментально обґрунтовані нові підходи до патогенетичної корекції синдрому ішемії-реперфузії з використанням інгібіторів протеолізу, антиоксидантів і аналогів природного простагландину E₁. Обґрунтована доцільність вивчення клінічної ефективності їх поєднаного вживання при синдромі ішемії-реперфузії.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Мальченко О.А. виконана на сучасному, доказовому науково-методичному рівні та є закінченим науковим дослідженням, яке базується на узагальненні даних літератури і результатів, одержаних автором. Для вирішення мети і

завдань дослідження автором використано великий обсяг методичних підходів, які дозволяють визначити стан неспецифічних протеїназ, їх інгібіторів, продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів і антиоксидантів в сироватці крові і гомогенатах скелетних м'язів раніше ішемізованих кінцівок в умовах моделювання синдрому ішемії-реперфузії в експерименті, морфологічних змін м'язової тканини з використанням біохімічних, морфологічних і статистичних методів дослідження.

Наукові положення, представлені в дисертації, і висновки одержані на достатньому за обсягом фактичному експериментальному матеріалі і витікають з результатів досліджень. Достовірні наукові дані, викладені у дисертаційній роботі, підтверджено відповідним ілюстративним матеріалом, наведеним у вигляді 30 малюнків, включаючи 21 мікрофотографію та 10 таблиць.

В роботі приведено переконливий фактичний матеріал щодо закономірностей патогенетичних механізмів участі продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, неспецифічних протеїназ, їх інгібіторів в розвитку синдрому ішемії-реперфузії і обґрунтування підходів до їх патогенетичної корекції. Основні положення та висновки дисертаційної роботи відповідають сутності отриманих результатів.

Автореферат повністю відображає сутність матеріалів дисертаційної роботи.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційна робота Мальченко О.А. виконана в рамках наукових тематик кафедри патологічної фізіології ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І. Ґеоргієвського» «Розробка підходів для оцінки патогенетичної ролі тканинних протеїназ та їх інгібіторів при системних і локальних патологічних процесах» (2007–2009 рр., № держреєстрації 0107U001255) та «Розробка критеріїв діагностики синдрому системної запальної реакції на основі вивчення патогенетичної ролі компонентів протеїназ-інгібіторної системи при критичних станах» (2010–

2012 рр., № держреєстрації 0110U002965). Здобувач є співвиконавцем обох наукових тем.

Загальна характеристика роботи.

У вступі до дисертації автором визначена актуальність обраної теми, показана загальна характеристика проблеми патогенезу реперфузійного синдрому, підходів до його корекції, чітко сформульовано мету, завдання дослідження. Визначені об'єкт, предмет і методи дослідження, викладені наукова новизна та практичне значення результатів, наведені дані про особистий внесок здобувача, публікації та апробацію основних результатів роботи.

У першому розділі роботи (**огляді літератури**), який викладено на 21 сторінці, що не перевищує 20% обсягу основної частини тексту дисертації, автором проведено аналіз основних сучасних літературних даних про сучасні концепції розуміння синдрому ішемії/реперфузії, цитопротективне моделювання при даному синдромі, роль біофлавоноїдів та інгібіторів протеолізу в патогенезі синдрому ішемії/реперфузії. Важливим набутком огляду є обґрунтування того, що розуміння патогенетичних механізмів ушкодження тканин при синдромі ішемії/реперфузії дозволяє вести пошук лікувальних підходів з впливом на їх ключові механізми. Усе вищезазначене стало підставою даного дослідження, визначило його характер, мету і основні завдання.

Загалом, матеріал цього розділу свідчить про зрілість дисертанта як наукового дослідника, значний об'єм проведеної роботи із літературними джерелами, досконале вміння працювати з сучасними інформаційними системами. Джерела цитуються доречно і обґрунтовано, літературні посилання оформлені згідно існуючих вимог.

Другий розділ **«Матеріали та методи дослідження»** традиційно присвячений опису об'єктів дослідження, матеріалів і методів, які було застосовано для реалізації завдань дослідження, та складається з трьох підрозділів. Автором докладно описано методики моделювання

застосованих експериментальних моделей синдрому ішемії/реперфузії шляхом накладання джгута на задні кінцівки тварин. Описані застосовані методи досліджень – спектрометричні та морфологічні. Для обробки результатів досліджень застосовувались сучасні методи статистики – реєстрацію даних проводили у програмі EXCEL з пакету MSOffice (Microsoft Corp., США), статистичну обробку – у програмі STATISTICA 5.5a (Stat-Soft, США). Одержані результати опрацьовували модулем параметричних тестів ANOVA/MANOVA (LSD test, Newman-Keuls test, Duncan's test multiple range test, Turkey honest significance difference) для повторювальних порівнянь середніх значень у дослідних групах та непараметричним кореляційним тестом Spearman для порівняння масиву даних у нерівномірних вибірках.

Третій розділ **«Патофізіологічні механізми, що обумовлюють морфологічні ураження скелетних м'язів при ішемії/реперфузії»** представлений результатами власних досліджень особливостей розвитку синдрому ішемії/реперфузії в експерименті. Новими є результати докладного вивчення розвитку синдрому ішемії/реперфузії та виявлення корелювання виснаження інгібіторного потенціалу неспецифічних протеїназ з вираженістю синдрому.

Наприкінці розділу наведено коротке узагальнення отриманих результатів. Розділ ілюстрований 14 малюнками та містить 4 таблиці.

У четвертому розділі **«Особливості модифікації патофізіологічних механізмів при синдромі ішемії/реперфузії шляхом фармакологічної корекції»** наведені результати власних досліджень результатів фармакологічної корекції синдрому ішемії/реперфузії в експерименті. Новими є результати докладного вивчення ефективності вживання водорозчинної форми кверцетину, інгібітору протеїназ апротиніну і аналогу природного простагландину E₁ для корекції метаболічних змін при розвитку реперфузійного синдрому, що підтверджується зниженням рівня вторинних продуктів ВРО і збільшенням рівня ендогенних антиоксидантів, зниженням протеолітичної активності і збільшенням рівня інгібіторів протеїназ в м'язовій

тканині і на системному рівні. Найбільша ефективність виявлена при поєднаному вживанні препаратів, яке приводило до нормалізації показників протсолізу і ВРО, зменшення морфологічних і ультраструктурних змін в м'язовій тканині з осередку ішемії/реперфузії кінцівки щурів.

Дані власних досліджень оформлені 4 таблицями та містять 8 рисунків.

П'ятий розділ «**Аналіз та узагальнення результатів дослідження**» дозволив автору зібрати разом велику кількість фактичного матеріалу, наведеного у попередніх розділах та зробити логічні висновки і викласти їх у вигляді патогенетичної схеми взаємозв'язку локальних та системних уражень при реперфузійному синдромі, зміни ферментативної активності в гомогенатах скелетних м'язів у 6 рисунках. Всі ці дані логічно впливають з результатів роботи. Висновки послідовно узагальнюють проведені дослідження, складаються з п'яти пунктів та підсумовують аналіз одержаних результатів і заперечень не викликають.

Відповідність дисертації вимогам ДАК МОН України.

Дисертаційна робота Мальченко О.А. побудована згідно вимог ДАК МОН України і викладена на 148 сторінках, складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел з 197 найменувань. Дисертація ілюстрована 10 таблицями та 30 рисунками.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення.

Дисертаційна робота виконана в класичному стилі, а саме: складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел (з яких 54 написані кирилицею і 143 – латиницею). Дисертаційна робота містить всі обов'язкові розділи, які відображують етапи планування, вибір методології й тактики проведення експериментальних і клінічних досліджень.

Разом з тим, робота не позбавлена ряду недоліків.

1. Окремі скорочення, використані автором, не розшифровані в тексті й відсутні в переліку умовних скорочень.
2. В процесі рецензування було виявлено і виправлено ряд граматичних неточностей.

Вищевказані недоліки не зменшують загальної позитивної оцінки роботи та науково-практичного значення проведеного дисертантом дослідження.

Зауважень до автореферату немає.

В процесі рецензування виникли наступні питання:

1. В дисертаційному дослідженні для терапії реперфузійних розладів пропонується використовувати комбінацію біофлавоноїду, інгібітору протеаз і аналогу простагландину E₁. В той же час відомо, що апротинін в клініці використовується в якості антифібринолітика. Який механізм дії інгібітору протеаз може бути використаний при лікуванні синдрому ішемії-реперфузії? В чому може бути перевага використання запропонованої комбінації препаратів, і чи є життєздатною така терапія в реальних клінічних умовах?
2. Якщо говорити про використання запропонованого методу в практиці, то в які терміни, на погляд автора, оптимально починати лікування? Що може бути більш ефективно - превентивне або лікувальне використання?

Заключення.

Дисертаційна робота Мальченко О.А. «Патогенетичне обґрунтування підходів до корекції пошкоджень тканин кінцівки при експериментальному реперфузійному синдромі», подана в спеціалізовану вчену раду Д. 26.198.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України на здобуття наукового ступеню кандидата медичних наук є завершеною науковою працею, у якій автор із використанням сучасних методів дослідження отримав нові дані стосовно встановлення ролі протеолітичних і вільнорадикальних механізмів у патогенезі розвитку реперфузійного синдрому й

експериментального обґрунтування патогенетичних підходів до медикаментозної корекції зазначеної патології за допомогою поєднаного застосування антиоксидантів і інгібіторів протеїназ і аналогів простагландину. За своєю актуальністю, науковим та практичним значенням, глибиною та обсягом досліджень, змістом та оформленням робота повністю відповідає вимогам ДАК МОН України про присудження наукових ступенів стосовно дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а її виконавець, Мальченко Ольга Анатоліївна, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

науковий співробітник

відділу хірургії магістральних судин

Національного інституту хірургії

та трансплантології ім.О.О. Шалімова

НАМН України,



A handwritten signature in black ink, appearing to be "М.О. Артеменко".

М.О. Артеменко