

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Шаріпова Романа Рінатовича «Порушення кардіогемодинаміки при фокальній ішемії-реперфузії головного мозку та їх корекція»,

яка подана до захисту у спеціалізовану вчену раду Д 26.198.01

при Інституті фізіології імені О.О. Богомольця НАН України

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Актуальність напрямку досліджень і теми дисертації.

Ішемічний інсульт належить до найбільш тяжких форм цереброваскулярних захворювань. Його поширеність в різних країнах світу постійно зростає. Ішемічний інсульт посідає друге місце у структурі причин смертності і перше місце у структурі причин інвалідизації дорослого населення більшості країн. В Україні поширеність ішемічного інсульту, показник смертності від цієї патології та рівень інвалідизації хворих з перенесеним інсультом набагато вищі, ніж у європейських країнах.

Клінічні спостереження і дослідження свідчать про розвиток функціональних порушень діяльності серцево-судинної системи у хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу, так званого церебрально-кардіального синдрому, який суттєво ускладнює перебіг ішемічного інсульту і погіршує його прогноз. У зв'язку з цим важливим є з'ясування патофізіологічних механізмів розвитку порушень різних функцій серця в гострому періоді ішемічного інсульту, коли негативний вплив на міокард може чинити як ішемія головного мозку, так і його реперфузія після відновлення мозкового кровотоку. Слід зазначити, що механізми розвитку порушень діяльності серця при ішемії-реперфузії мозку ще недостатньою мірою з'ясовані, зокрема, не визначено роль в цих процесах явищ оксидативного та нітрозативного стресу в мітохондріях і міокарді в цілому.

Не менш актуальним напрямом експериментальних досліджень, результати яких важливі для пошуку нових засобів нейро- і кардіопротекторної дії, є вивчення впливу індукторів синтезу сірководню, який є одним із головних регуляторів системи оксиду азоту, з метою корекції порушень діяльності серця за умов ішемії/реперфузії головного мозку.

Перераховані вище аспекти розглянуті і досліджені у дисертаційній роботі Р.Р. Шаріпова, яка спрямована на вивчення патофізіологічних механізмів розвитку порушень діяльності серця та визначення ефективності засобів корекції цих порушень за умов ішемії/реперфузії головного мозку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційне дослідження виконано в рамках наукової тематики відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Вивчення ролі мітохондрій в реакціях серцево-судинної системи при різних функціональних станах організму» (2010-2013рр.), № державної реєстрації 0107U005336 та «Дослідження ролі сигнальних сполук сірки в реакціях серцево-судинної системи щурів при різних станах організму» (2014-2018 рр.), № державної реєстрації 0109U005359.

Новизна дослідження і отриманих результатів.

У дисертаційній роботі використано експериментальну модель фокальної ішемії/реперфузії головного мозку для відтворення патологічних змін, які спостерігаються у людей в гострий період ішемічного інсульту.

Шаріповим Р.Р. отримано нові дані, які підтверджують розвиток порушень насосної, скоротливої та діастолічної функцій серця у щурів за умов фокальної ішемії/реперфузії головного мозку. Встановлено, що ці несприятливі зміни розвиваються не тільки в період гострої ішемії, а й в період відновлення мозкового кровотоку, коли їх вираженість навіть більша, ніж при ішемії. Вперше показано, що одночасно із порушеннями систолічної та діастолічної функцій серця в мітохондріях міокарда посилюється

утворення вільних радикалів (супероксидного, гідроксильного), про що свідчить зростання рівнів дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду. Крім того, в мітохондріях серця щурів з фокальною ішемією-реперфузією головного мозку виявлено посилення індукцйбельного *de novo* синтезу NO, зростання пулів нітрозотіолів, нітрат-аніонів, збільшення активності аргінази, тобто проявів індукції нітрозативного стресу.

Вперше показано, що введення комбінації DL-пропаргілгліцину та L-цистеїну попереджує порушення діяльності серця за умов фокальної ішемії/реперфузії мозку, також практично нівелюється розвиток оксидативного та нітрозативного стресу в міокарді піддослідних тварин. Подібні ефекти зумовлював і екдистерон – природний аналог C₂₇-стероїдного гормону кальцитріолу.

Теоретична цінність результатів дослідження полягає у розширенні сучасних уявлень про порушення діяльності серця при фокальній ішемії та реперфузії головного мозку, а також у встановленні ролі оксидативного і нітрозативного стресів у мітохондріях міокарда як одного із фундаментальних патофізіологічних механізмів розвитку порушень кардіогемодинаміки.

Практичне значення результатів.

В дисертаційному дослідженні продемонстровано, що головним патофізіологічним механізмом порушення різних функцій серця при фокальній ішемії та реперфузії головного мозку є розвиток оксидативного та нітрозативного стресів в мітохондріях. З урахуванням цього для корекції виявлених порушень і посилення антиоксидантного захисту мітохондрій обґрунтовано використовувати одноразове послідовне введення DL-пропаргілгліцину та L-цистеїну або курсове, протягом 18 діб, введення екдистерону. В експерименті доведено високу ефективність цих сполук, що в перспективі, можливо, сприятиме створенню нових лікувально-

профілактичних засобів. Отримані результати можуть бути корисними в клінічній практиці для попередження ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку та міокарда, корекції порушень кардіогемодинаміки при ішемічному інсульті, досягненні позитивних результатів лікування хворих з ішемічним інсультом.

Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Наукові положення дисертаційної роботи логічні, обґрунтовані і аргументовані результатами власних досліджень. Дослідження проведене на високому методологічному рівні, використано сучасні та інформативні фізіологічні, біохімічні, імуноферментні методи. Отримані дані опрацьовані загальноприйнятими статистичними методами, якими доведено їх достовірність. Зроблені висновки відповідають поставленим завданням і отриманим результатам, конкретні, чітко сформульовані. Матеріал в цілому добре ілюстрований.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях та в авторефераті.

Результати дисертаційного дослідження, наукові положення і висновки добре висвітлені у 11 опублікованих працях, серед яких п'ять статей у фахових наукових виданнях, які індексуються у міжнародних наукометричних базах. Дисертант є співавтором патенту на корисну модель. Результати, основні положення і висновки були достатньою мірою представлені та обговорені на вітчизняних і міжнародних наукових форумах.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату і основних положень дисертації.

Дисертація побудована і оформлена відповідно до вимог ДАК України. Викладена державною мовою, містить 104 сторінки основного тексту, добре

ілюстрована рисунками, фотографіями і таблицями. Перелік використаних джерел включає 231 наукову працю.

Структура роботи чітка і відповідає сучасним вимогам: титульна сторінка, анотації українською та англійською мовами, список наукових праць дисертанта, зміст, перелік умовних скорочень, вступ, огляд літератури, розділ «Модель і методи досліджень», чотири розділи результатів власних досліджень, розділ «Аналіз та узагальнення результатів», висновки, список використаних джерел.

Анотації містять лаконічне обґрунтування дослідження, чітко представлені основні результати, при цьому акцентовано їх наукову новизну, практичне значення і перспективи подальшого використання.

У вступі на 7 сторінках добре обґрунтована актуальність напряму і теми дослідження, підкреслено зв'язок роботи з науковими програмами і темами, сформульовані мета і п'ять основних завдань для її досягнення, визначені об'єкт, предмет і методи дослідження, чітко сформульована наукова новизна отриманих результатів та їх практичне значення, відображено особистий внесок здобувача, дані про апробацію та публікацію результатів, наукових положень та висновків, структуру і об'єм роботи, використаний ілюстративний матеріал.

Огляд літератури на 24 сторінках включає чотири підрозділи, в яких охарактеризовано і узагальнено сучасні літературні дані, що стосуються проблеми і теми дисертаційного дослідження. Описано комплекс змін, що відбуваються у головному мозку, на різних стадіях розвитку гострої фокальної ішемії. Охарактеризовані патофізіологічні механізми ішемічного та реперфузійного пошкодження головного мозку, підкреслено значимість в їх розвитку дисфункції ендотелію, оксидативного і нітрозативного стресу, запалення, мітохондріальної дисфункції та дефіциту енергетичних субстратів. Підкреслено, що аналогічні зміни відбуваються і при ішемії та реперфузії міокарду. В окремому підрозділі наведені літературні дані, які переконливо свідчать про порушення кардіогемодинаміки при фокальній

ішемії-реперфузії головного мозку, та описані патофізіологічні механізми розвитку цих порушень, зокрема, роль оксидативного та нітрозативного стресу. Завершує огляд літератури підрозділ, у якому йде мова про шляхи утворення в організмі сірководню, його кардіо- і васкулопроекторні властивості, які пояснюються протиапоптотичною, протизапальною дією і антиоксидантною дією.

У розділі «Матеріал і методи дослідження», викладеному на 11 сторінках, в деталях описана використана у роботі модель фокальної церебральної ішемії-реперфузії, хід оперативного втручання. У цьому ж розділі описані методи визначення показників насосної, систолічної та діастолічної функцій міокарду лівого шлуночка серця, метод виділення фракції мітохондрій, методи визначення показників оксидативного і нітрозативного стресу, методики дослідження впливу різних сполук на кардіогемодинаміку та маркери оксидативного і нітрозативного стресу. Викладений у розділі матеріал дозволяє отримати уявлення про загальний дизайн дослідження.

У 3-му розділі (два підрозділи, 12 сторінок тексту) представлено результати власних досліджень дисертанта, які переконливо свідчать про негативний вплив ішемії і, особливо, ранньої фази реперфузії головного мозку на насосну функцію серця, скоротливу активність міокарда, його діастолічне розслаблення. В той же час показано, що через 24 години реперфузії відбувається повне відновлення показників насосної і систолічної функцій серця, а також часткове покращення діастолічної функції.

У 4-му розділі (два підрозділи, 7 сторінок) описані зміни показників оксидативного і нітрозативного стресу в мітохондріях та гомогенаті тканин серця за умов фокальної ішемії-реперфузії головного мозку. Показано значне збільшення генерації супероксиданого і гідроксильного радикалів, пулу H_2O_2 , концентрації дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду, що свідчить про розвиток оксидативного стресу. Також визначено активацію ксантиноксидазного, ліпоксигеназного та циклооксигеназного шляхів

утворення супероксидного радикалу, на що вказує зростання рівнів, відповідно, сечової кислоти, лейкотрієну C4 та тромбоксану B2 в мітохондріях. Поряд із цим через 24 години після моделювання фокальної ішемії-реперфузії головного мозку в мітохондріях та гомогенетах тканин серця збільшується вміст маркерів розвитку нітрозативного стресу – активності індукцибельної NO-синтази, пероксинітриту, нітрат-аніону, нітрозотіолів.

У розділі 5 (9 сторінок) доведено, що одноразове введення комбінації DL-пропаргілгліцину та L-цистеїну до моделювання фокальної ішемії-реперфузії головного мозку попереджує розвиток кардіальної дисфункції і збільшує виживання тварин на 25%. Відсутність зниження показників насосної, систолічної та діастолічної функцій серця спостерігалось як під час ішемії, так і в період реперфузії головного мозку. Одночасно із сприятливим впливом на функції серця, профілактичне застосування комбінації DL-пропаргілгліцину та L-цистеїну повністю нівелювало прояви оксидативного і нітрозативного стресу в мітохондріях міокарду – вміст супероксидного і гідроксильного радикалів, малонового діальдегіду, активність індукцибельної NO-синтази, вміст нітрат-аніону, не відрізнялися від значень відповідних показників до моделювання фокальної ішемії-реперфузії мозку.

У розділі 6 (три підрозділи, 15 сторінок) дисертант переконливо довів, що профілактичне (протягом 18 діб) застосування природного аналога кальцитріолу екдистерону чинить протекторну дію щодо розвитку оксидативного стресу в мітохондріях серця за умов фокальної ішемії-реперфузії головного мозку. Аналогічний ефект екдистерону був визначений і відносно показників нітрозативного стресу – активність індукцибельної NO-синтази, нітратредуктазна активність, вміст нітрат- та нітрит-аніонів, низькомолекулярних нітрозотіолів зменшилися до рівнів контролю.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» (6 сторінок) дисертант обговорює основні власні результати і наукові положення з використанням

сучасних літературних даних, акцентує увагу на новизні власних досліджень і одержаних результатів, їх практичному значенні.

На підставі обговорення результатів дослідження зроблено чіткі обґрунтовані висновки, що відповідають меті та поставленим у роботі завданням.

Таким чином, дисертаційна робота є цілісним завершеним дослідженням. Її зміст і оформлення відповідають вимогам ДАК України. Автореферат стисло відображує зміст дисертації, основні результати і положення, висновки.

Зауваження і запитання, які виникли при аналізі дисертації та автореферату.

Принципових недоліків і зауважень щодо змісту та оформлення дисертації й автореферату немає. Непринциповими зауваженнями є такі:

Розділ «Огляд літератури», на мою думку, доцільно завершити коротким підсумком викладеного матеріалу та обґрунтуванням основних завдань дисертаційного дослідження.

В розділі 2 «Модель та методи досліджень» - більш детально описати експериментальних тварин (лінія шурів, їх вік і стать, маса тіла), які групи шурів були взяті в експеримент, кількість особин в кожній групі. Описати використані методи статистичного аналізу даних.

В розділі 3 відсутні дані щодо кількості тварин у кожній серії.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» - більш детально обговорити власні результати, порівняти їх з наявними літературними даними, які стосуються теми дисертаційного дослідження.

В списку використаних джерел їх розподіл за роками наступний: до 2000 р. – 35%, у 2000-2009 р.р. – 44%, у 2010-2019 р.р. - 21%.

В дисертації присутні граматичні помилки і деякі невдалі висловлювання.

Зроблені зауваження, однак, не впливають на загальну позитивну оцінку рецензованої роботи.

В процесі розгляду дисертації та автореферату виникли такі запитання:

1. Чи обмежує сірководень вираженість оксидативного і нітрозативного стресу в міокарді за умов фокальної ішемії/реперфузії головного мозку? Якщо так, то яким чином?

2. Чи можна на підставі отриманих Вами результатів стверджувати про причинно-наслідковий зв'язок між посиленням оксидативного (чи нітрозативного) стресу в мітохондріях міокарда та порушенням діяльності серця при фокальній ішемії/реперфузії головного мозку?

3. Чи мали місце ознаки розвитку ішемічного інсульту (морфологічні, функціональні) через 24 годин після моделювання фокальної ішемії/реперфузії головного мозку? Чи корелювали ці прояви із проявами порушень діяльності серця?

4. Через 24 годин після моделювання фокальної ішемії/реперфузії головного мозку померли 33% і вижили 67% тварин. Чи відрізнялись показники кардіогемодинаміки, оксидативного і нітрозативного стресу між групами щурів, які вижили і померли?

ВИСНОВОК

про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Шаріпова Р.Р. «Порушення кардіогемодинаміки при фокальній ішемії-реперфузії головного мозку та їх корекція» є завершеним, оригінальним, самостійно виконаним науковим дослідженням, яке за науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю одержаних результатів має вагоме значення для патологічної фізіології, кардіології і неврології.

В дисертаційному дослідженні вирішено важливе наукове завдання – в експерименті визначено роль оксидативного і нітрозативного стресу у

мітохондріях міокарду в розвитку порушень діяльності серця за умов фокальної ішемії та реперфузії головного мозку; науково обґрунтовано новий напрямок кардіопротекції, який полягає у застосування сполук, що модифікують (посилюють) утворення сірководню і обмежують процеси оксидативного та нітрозативного стресу в міокарді.

Враховуючи актуальність обраного напрямку дослідження і теми дисертаційної роботи, наукову новизну отриманих результатів та їх практичне значення, перспективу подальшого використання, зв'язок з науковими темами, достатнє висвітлення результатів у вітчизняній та світовій науковій літературі, досить широке обговорення результатів на наукових форумах, вважаю, що дисертація відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (зі змінами, внесеними в Постановах КМ № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015 та № 567 від 27.07.2016), щодо кандидатських дисертацій, а її автор Шаріпов Роман Рінатович заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю – 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент –

заступник директора з наукової роботи

ДУ «Інститут геронтології

ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»,

провідний науковий співробітник

відділу клінічної фізіології та

патології внутрішніх органів,

доктор медичних наук, професор

Шатило В.Б.

Підпис проф. Шатило В.Б. засвідчую:



10 В.М. Приходько