С

ПРИВАТНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД «МІЖНАРОДНА АКАДЕМІЯ ЕКОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ»

PRIVATE HIGHER EDUCATIONAL INSTITUTION «INTERNATIONAL ACADEMY OF ECOLOGY AND MEDICINE»

МДЕМ

Харківське шосе,121, м. Київ, 02091
ідент. код за ЄДРПОУ 37857335
тел.: +38 044 563-98-54
MAEM.Academy.edu@gmail.com

Kharkivske shose,121, Kyiv,02091,
identification code 37857335
tel.: +38 044 563-98-54
MAEM.Academy.edu@gmail.com

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, в.о. ректора ПВНЗ «Міжнародна академія екології та медицини» МОН України
Савицького Івана Володимировича
на дисертаційну роботу Лук'янової Євгенії Михайлівни
на тему "Роль ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку скополамін- та нітрит-індукованої деменції альцгеймерівського типу у щурів",
подану на здобуття ступеня доктора філософії
в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»,
спеціалізація «Патологічна фізіологія»

1. Актуальність теми дисертації.

Деменція, яка проявляється пригніченням когнітивних функцій головного мозку, має властивість прогресувати та інвалідизувати людину. Більшість людей (приблизно 60-70% випадків), які страждають на погіршення пам'яті, становлять пацієнти з хворобою Альцгеймера (ХА) поряд з пацієнтами з судинною деменцією.

Дуже часто у людей з ХА виявляється судинна патологія, що включає атеросклероз великих артерій головного мозку, артеріолосклероз, інфаркти головного мозку і церебральну амілоїдну ангіопатію. Адже накопичення β-амілоїду у тканині та судинах головного мозку часто пов'язане з дисфункцією судин, порушенням розщеплення β-амілоїду протеолітичними ферментами з подальшим виведенням по периваскулярним шляхам. У зв'язку з цим, на думку багатьох авторів, основною гіпотезою розвитку ХА є не тільки гіпотеза «амілоїдного каскаду» і накопичення тау-білка, а й судинна гіпотеза, де ушкодження судин головного мозку збільшують ймовірність появи ХА.

Вивчення причин і механізмів розвитку ХА досі продовжується, що пояснюються довготривалим пошуком ефективних методів боротьби з

прогресуванням цієї патології. Сучасні стратегії лікування ХА, як багатофакторного і патогенетично складного захворювання, вимагає одночасного впливу на різні мішені ХА і на ранніх стадіях ХА.

У зв'язку з цим, особливий інтерес викликаний терапією мезенхымальними стовбуровими клітинами (MSC), яка є багатообіцяючою, ефективною, безпечною терапевтичною стратегією для нейродегенеративних захворювань, у тому числі і ХА.

Отже, мета та завдання дисертаційної роботи Лук'янової Євгенії Михайлівни, спрямовані на вивчення ролі дисфункції ендотелію судин головного мозку в патогенезі ХА, викликаною різним шляхами в експерименті, а також можливість застосування MSC при цій патології, слід вважати актуальною в науково-теоретичному та практичному аспектах.

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

Виконана науково-дослідна робота є фрагментом наукової роботи кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету на тему «Патогенез ушкоджуючої дії на організм екзогенних факторів в сучасних умовах», № держ. реєстрації 0115U000991.

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна.

Концепція дисертаційного дослідження є добре спланованою, логічною та послідовною. Автор дисертації кваліфіковано формулює сутність існуючої проблеми, логічно визначає мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження. У науково-методичних підходах при розробці та впровадженні моделі деменції альцгеймерівського типу передбачено проведення комплексних досліджень, які дисертантка вдало здійснила, використовуючи два методи моделювання, а також сучасні патофізіологічні, біохімічні, морфологічні, імуногістохімічні, аналітико-статистичні методи обстеження.

Роботу виконано на 80 щурах-самцях популяції WAG, що відповідає нормам біоетики, про що свідчить протокол №8 (від 10.10.2018) та протокол №2 (від 12.10.2022) засідання комісії з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету. Всі експериментальні дані статистично

оброблені і їх достовірність не викликає сумнівів.

Обсяг наукового матеріалу достатній для обґрунтування і доведення достовірності рекомендацій та висновків, що сформульовані у дисертації.

4. Наукова новизна дослідження та отриманих результатів.

Наукова новизна полягає в тому, що вперше за даними комплексного та порівняльного аналізу була визначена первинна чи вторинна роль дисфункції ендотелію в механізмах розвитку ХА, викликаної різними шляхами в експериментальних умовах.

Вперше були запропоновані 14- та 28-денна нітрит-індукована та 14-денна скополамін-індукована моделі деменції альцгеймерівського типу, де були оцінені ступінь ушкодження ендотеліоцитів судин, нейропіля великих півкуль головного мозку, а також дисбаланс в прооксидантно-антиоксидантній системі, рівень гіпоксії, холінодефіциту, енергодефіциту в тканині головному мозку та відповідні зміни поведінкових реакцій та когнітивних функцій у щурів.

Вперше в стінах Харківського національного медичного університету був використаний метод регенеративної медицини (внутрішньовенне введення MSC, отриманих з червоного кісткового мозку) з метою корекції саме деменції альцгеймерівського типу, викликаної експериментальним шляхом. Завдяки цьому методу корекції нейродегенеративного стану була виявлена поява нових капілярів та ендотеліоцитів, ділянок нейропіля з ймовірною регенерацією відростків нервових клітин на фоні підвищення рівня ацетилхоліну в гомогенатах головного мозку.

Визначено, що під впливом MSC знижується емоційна реактивність, занепокоєння, тривожність і, підвищуються когнітивні функції і синаптична пластичність, що свідчить про значне покращення, але не повне відновлення дослідницької та когнітивної активності.

Також розширені уявлення про регенераторний потенціал клітин головного мозку на тлі введення скополаміну бутилброміду та нітриту натрію та після припинення їх негативного впливу.

5. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Проведене дослідження суттєво доповнює основні напрямки використання MSC в корекції експериментальної ХА, а також основні ланки

патогенезу цієї хвороби, де обов'язково присутня дисфункція ендотелію судин головного мозку. Запропоновано використання забарвлення мікропрепаратів головного мозку бромфеноловим синім для розуміння окислювальної модифікації білків нейропіля великих півкуль головного мозку, гіпокампа та інших структур головного мозку для підтвердження появи амілоїдних скупчень та ступеня дистрофії або атрофії різних структур головного мозку. Опрацьовано внутрішньовенне введення MSC, отриманих з червоного кісткового мозку, у щурів в різні строки експериментальної деменції, що надихає на подальше дослідження не тільки регенераторного ефекту, але й побічних ефектів від використання стовбурових клітин, введених таким шляхом. Отримані знання про вплив нітриту натрію на головний мозок та його судини потребує подальшого вивчення в теоретичній, клінічній медицині, а також в галузі гігієни та екології, харчовій промисловості.

Окремі фрагменти дисертаційного дослідження впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедр вищих навчальних закладів України (кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. Д.О. Альперна, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, кафедри патологічної фізіології Полтавського державного медичного університету, кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету).

6. Оцінка наукового рівня дисертації та наукових публікацій здобувача.

В дисертаційній роботі був зроблений глибокий аналіз різних ланок патогенезу ХА, де дисфункція ендотелію судин мала визначальну роль в нітрит-індукованій моделі та вторинну роль в скополамін-індукованій деменції альцгеймерівського типу. Завдяки такому комплексному підходу до вивчення механізмів розвитку ХА, був також оцінений ефект MSC, введених одноразово внутрішньовенно в різні терміни експериментальної ХА.

Беручи до уваги те, що був використаний порівняльний аналіз двох експериментальних моделей та регенерації клітин головного мозку без

застосування та після введення MSC, можна стверджувати, що робота Лук'янової Є.М. була виконана на високому рівні.

Результати дисертаційної роботи Лук'янової Є.М. опубліковані в двох журналах наукометричної бази Scopus 4-ого квартилю в Сербії та Японії («Medicinski Časopis», «Teikyo Medical Journal»), в п'яти українських фахових журналах категорії «Б» та в збірниках міжнародних конгресів, конференцій (14 тез), де матеріали дисертації були представлені та обговорені.

7. Оцінка змісту і оформлення роботи.

Дисертаційна робота Лук'янової Є.М. побудована згідно з вимогами МОН та викладена на 218 сторінках друкованого тексту, ілюстрована 18 таблицями і 31 рисунками. Список літературних джерел містить 287 найменувань (кирилицею - 44, латиницею - 243).

У вступі дисертації стисло обґрунтовано вибір теми дослідження, визначені мета, завдання, об'єкт та предмет дослідження, наукова новизна та практичне значення роботи, відомості про структуру, обсяг роботи, а також особисті внески дисертантки, апробацію результатів дослідження та їх публікації.

Розділ 1 «Огляд літератури» викладено на 25 сторінках машинописного тексту, в якому представлено аналіз сучасної наукової літератури щодо особливостей патогенезу ХА чи деменції альцгеймерівського типу, сучасних методів лікування цього нейродегенеративного захворювання та описані основні експериментальні моделі ХА.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» здобувачка детально описує експериментальних тварин, їх розподілення на 10 груп у вигляді схем, всі патофізіологічні, біохімічні, морфологічні, імуногістохімічні, аналітико-статистичні методи дослідження.

У розділі 3 «Результати власних досліджень. Скополамін-індукована модель деменції альцгеймерівського типу» автор надає характеристику поведінкових реакцій і когнітивних функцій щурів до введення скополаміну бутилброміду, зразу після та через 14 днів після припинення ін'єкцій скополаміну або MSC. Також автор вивчає стан ендотелію судин головного мозку за допомогою біохімічного, імуногістохімічного та морфометричного

аналізу. Додатково описує стан прооксидантно-антиоксидатної системи, розвиток мітохондріальної дисфункції, дефіцит ацетилхоліну, рівень гіпоксії головного мозку. Також детально описує морфофункціональні зміни нейропіля великих півкуль та особливості регенераторних процесів в тканині головного мозку. Всі біохімічні та морфологічні зміни зафіксовані у щурів з 14- та 28-денною скополаміновою моделлю без та після введення MSC через 14 днів після останнього дня ін'єкції скополамін або стовбурових клітин.

У розділі 4 «Результати власних досліджень. Нітрит-індукована модель деменції альцгеймерівського типу» автор аналогічно описує всі зміни в тканині головного мозку, які впливають на поведінкові реакції та когнітивні функції, у щурів після 14-ти та 28-и днів щоденного внутрішньоочеревинного введення водного розчину нітриту натрію в дозі 50 мг/кг на одного щура та після внутрішньовенних ін'єкцій MSC, що надає змогу в наступному розділі порівняти ці дві моделі з метою визначення ролі дисфункції ендотелію судин в амілоїдозі головного мозку.

У розділі 5 «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» дисертантка характеризує взаємозв'язок між ендотеліальною дисфункцією судин головного мозку та всіма іншими ланками патогенезу ХА та свої підсумки порівнює з сучасними даними літератури. Звертає на себе увагу співставлення особливостей регенерації ендотеліоцитів судин та нейропіля великих півкуль головного мозку без та під впливом стовбурових клітин. Варто зазначити, що достатній об'єм матеріалу власних досліджень обґрунтовує доцільність науково-практичного використання здобутих результатів.

У розділі «Висновки» представлено сім висновків, які повністю відповідають меті та шести поставленим задачам та є науково обґрунтованими та логічними.

Практичні рекомендації сформульовано зрозуміло і чітко, тому вони можуть бути легко використані у щоденній науково-дослідній, клінічній практиці та в галузі гігієни та екології.

Таким чином, дисертаційне дослідження Лук'янової Євгенії Михайлівни відповідає існуючим вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії і є завершеною науковою працею.

8. Дані про відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Ознак фальсифікації, компіляції, плагіату та інших порушень норм академічної доброчесності, наукової етики і моралі не встановлено. Дисертаційна робота є самостійним дослідженням автора. Спільно з науковим керівником було обрано вибір напрямку роботи, сформульовані мета і завдання дослідження. Авторка самостійно проаналізувала сучасну літературу з проблеми, що вивчається, здійснила інформаційний та патентний пошук. Усі експериментальні спостереження, аналіз результатів біохімічних та морфологічних досліджень проведений безпосередньо здобувачкою. Дисертантка особисто написала всі розділи дисертаційної роботи, провела медико-статистичний аналіз отриманих даних. Оформлення дисертаційної роботи, формулювання висновків, практичних рекомендацій виконане авторкою самостійно.

9. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Нітрит-індукована модель деменції альцгеймерівського типу, розроблена дисертанткою, може служити прототипом для розробки аналогічних моделей для інших нозологій. Слід продовжити роботу у цьому напрямку. Враховуючи позитивний ефект від застосування MSC через 14 днів після їх внутрішньовенного введення, вважаю перспективним опрацювання результатів дослідження через 1 місяць чи довший період після ін'єкцій MSC.

Беручи до уваги те, що ендотеліальна та мітохондріальна дисфункції в головному мозку можуть розвиватися до розвитку нейродегенеративних процесів, треба використовувати ці знання для профілактики прогресування ХА.

10. Зауваження до змісту і оформлення дисертаційної роботи.

Принципових зауважень до змісту та оформлення дисертаційної роботи немає.

Зауваження та побажання, які не знижують теоретичної цінності проведених досліджень і практичного значення дисертації:

1) текст має невелику кількість друкарських помилок;

2) рекомендовано, щоб кількість висновків співпадала з кількістю завдань. В даній дисертації, треба було 6-ий та 7-ий висновки про мезенхімальні стовбурові клітини об'єднати в один та зменшити його в об'ємі;

3) можливо було б доцільним більш детально описати, скільки мічених стовбурових клітин мігрує в головний мозок у щурів різних груп.

У процесі ознайомлення з дисертаційною роботою виникли ***запитання для дискусії:***

1. Які рекомендації Ви можете надати для профілактики прогресування розвитку ендотеліальної дисфункції судин у людей після черепно-мозкових травм і з наявністю нейродегенеративних захворювань в сімейному анамнезі?
2. Яким чином, на Вашу думку, можна знизити надходження нітритів і нітратів до організму людини?
3. Чи є доцільним застосовувати мезенхімальні стовбурові клітини у людей, наприклад, з діагнозом «Дисциркуляторна енцефалопатія 3 ступеня», з клінікою хвороби Альцгеймера, але не підтвердженою лабораторними та інструментальними методами?

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Лук'янової Євгенії Михайлівни «Роль ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку скополамін- та нітрит-індукованої деменції альцгеймерівського типу у щурів», виконана під керівництвом доктора медичних наук, професорки Павлової Олени Олексіївни, є цілісним і завершеним науковим дослідженням, що містить нове рішення актуальної наукової задачі – визначення ролі дисфункції ендотелію судин головного мозку в механізмах розвитку хвороби Альцгеймера, викликаної введенням скополаміну бутилброміду ти нітриту натрію, а також можливість застосування мезенхімальних стовбурових клітин з метою корекції цього патологічного стану. У роботі використані сучасні методи діагностики, проведено глибокий статистичний аналіз, наявна наукова новизна, що дало змогу сформулювати корисні практичні рекомендації. Висновки є конкретними та обґрунтованими, повністю відповідають поставленій меті і завданням. Основні результати дослідження викладені у наукових публікаціях, впроваджені у навчальну діяльність та наукову роботу кафедр українських

медичних та фармацевтичних вищих закладів. В роботі відсутні ознаки порушення академічної доброчесності.

Таким чином, дисертаційна робота Лук'янової Євгенії Михайлівни «Роль ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку скополамін- та нітрит-індукованої деменції альцгеймерівського типу у щурів», за актуальністю, методичним підходом її виконання, науковою новизною, обґрунтованими результатами дослідження, практичним значенням та оприлюдненням отриманих результатів в наукових працях 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 від 12.01.2022 № 44, та Наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» та спеціалізацією «Патологічна фізіологія».

В.о. ректора приватного вищого
навчального закладу
«Міжнародна академія екології та медицини»
МОН України,

доктор медичних наук, професор **І.В. Савицький**

Підпис д.мед.н, професора І.В.Савицького засвідчую:

Вчений секретар МАЕМ
к.п.н., доцент А.А.Віцюк

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 16:32:40 12.05.2023

Назва файлу з підписом: Відгук Савицький Лук'янова (3).pdf.asice
Розмір файлу з підписом: 4.6 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Відгук Савицький Лук'янова (3).pdf
Розмір файлу без підпису: 5.1 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: САВИЦЬКИЙ ІВАН ВОЛОДИМИРОВИЧ
П.І.Б.: САВИЦЬКИЙ ІВАН ВОЛОДИМИРОВИЧ
Країна: Україна
РНОКПП: 2184607733
Організація (установа): ПВНЗ "МІЖНАРОДНА АКАДЕМІЯ ЕКОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ"
Код ЄДРПОУ: 37857335
Посада: В.О. РЕКТОРА
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 16:38:59 12.05.2023
Сертифікат виданий: КНЕДП ТОВ "Центр сертифікації ключів "Україна"
Серійний номер: 1CBE7C0700000000000000000000000000000001
Алгоритм підпису: ДСТУ-4145
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підпис PDF-файла (PAdES)
Формат підпису: Не визначено
Сертифікат: Кваліфікований