

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА
доктора медичних наук, професора,
в.о. завідувача кафедри патофізіології
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
МОЗ України,
Зябліцева Сергія 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»

Актуальність теми дисертації.

На теперішній час нейродегенеративні захворювання, хвороби серцево-судинної системи та онкологічні захворювання є основними причинами інвалідизації та смертності в різних країнах, у тому числі в Україні. Незважаючи на численні дослідження етіології та патогенезу хвороби Альцгеймера, а також засобів, спрямованих на попередження прогресування хвороби, увага багатьох дослідників зосереджена на вивченні взаємозв'язку між нейропатією та васкулопатією головного мозку.

Великою кількістю досліджень підтверджено, що обов'язковим етапом при скупченні амілоїду та формуванні когнітивних порушень є цереброваскулярна дисфункція, що супроводжується розвитком хронічної ішемії та гіпоксії. Багато авторів вважають, що нейродегенерації при хворобі Альцгеймера передують порушення функції ендотелію судин головного мозку. Стратегії терапевтичного впливу на перебіг прогресуючих нейродегенеративних захворювань, що застосовуються на даний час, включають препарати різних фармакологічних груп, які в більшості випадків не спроможні зупинити прогресування процесу ушкодження мозку. Тому пошук нових шляхів корекції даної патології, спрямованих на відновлення нервових клітин і нейронних зв'язків, є актуальним.

Враховуючи вищесказане, актуальність теми дисертаційного дослідження Лук'янової Євгенії Михайлівни, яке присвячено визначенню ролі ендотелію церебральних судин та його дисфункції в механізмах розвитку хвороби Альцгеймера, а також можливості корекції цього нейродегенеративного захворювання за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин не викликає сумнівів.

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

Робота була виконана в рамках плану наукових досліджень Харківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна «Патогенез ушкоджуючої дії на організм екзогенних факторів у сучасних умовах», № держ. реєстрації 0115U000991.

Оцінка наукового рівня дисертації та наукових публікацій здобувача.

Під час виконання роботи було проведено порівняльний аналіз двох моделей експериментальної деменції, що дало змогу детальніше вивчити роль судинної дисфункції в механізмах розвитку хвороби Альцгеймера, а також застосовано мезенхімальні стовбурові клітини з червоного кісткового мозку, що є сучасним методом корекції нейродегенеративних станів.

Отримані дані були статистично опрацьовані з використанням непараметричних методів аналізу в ліцензійному програмному пакеті, отримано обґрунтовані результати та зроблено висновки, які логічно впливають з результатів дослідження та відповідають меті та завданням роботи. Результати роботи висвітлено в журналах «Medicinski Časopis» та «Teikyo Medical Journal», які індексуються у наукометричній базі Scopus, а також в українських фахових журналах категорії «Б». У публікаціях відображено всі основні положення дисертаційної роботи. Було вивчено морфофункціональний стан судин та нейропілю головного мозку тварин з

експериментальною деменцією різного походження та особливості регенерації судин головного мозку після введення стовбурових клітин.

Результати дисертаційного дослідження були представлені у вигляді доповідей на фахових наукових конференціях в Україні, Польщі, Данії, Болгарії, Латвії.

Таким чином, дисертаційне дослідження Лук'янової Євгенії Михайлівни виконане на високому науковому рівні.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в тому, що вперше за даними комплексного та порівняльного аналізу на експериментальній моделі нейродегенерації, викликаній у щурів різнотривалим введенням скополаміну бутилброміду та нітриту натрію, було вивчено різні взаємодії таких ланок патогенезу хвороби Альцгеймера, як ендотеліальна дисфункція, гіпоксія, холінодефіцит, мітохондріальна дисфункція, окислювальний стрес.

Було встановлено відповідність змін між поведінковими реакціями, когнітивними функціями та морфофункціональним станом нейропілю великих півкуль головного мозку щурів. Одноразове внутрішньовенне введення мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з червоного кісткового мозку щурів, сприяло появі нових капілярів та ендотеліоцитів, регенерації відростків нервових клітин, підвищенню рівня ацетилхоліну в гомогенатах головного мозку за обома моделями, відновленню когнітивної активності.

Отримані результати дозволили авторці отримати патент на корисну модель «Спосіб моделювання деменції альцгеймерівського типу судинного походження у щурів». Патент України № 141759. 2020 Квіт 27.

Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обґрунтованість результатів дослідження, положень та висновків досліджень дисертаційної роботи Лук'янової Євгенії Михайлівни не

викликає сумнівів. Експериментальне дослідження виконано на білих безпорідних щурах-самцях, які було поділено на відповідні групи. Аналіз отриманих здобувачкою фактів ґрунтується на ретельному статистичному опрацюванні даних. Статистичні методи, використані у дослідженні, адекватні меті та задачам дисертаційної роботи.

У цілому методологічний підхід є коректним та дозволив авторці сформулювати висновки, які ґрунтуються на матеріалах власних досліджень, є достатньо аргументованими і доведеними.

Таким чином, можна констатувати, що обраний дисертанткою дизайн, програма та методологічний апарат дослідження дозволили забезпечити репрезентативність даних, розв'язати поставлені завдання, отримати достовірні результати.

Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

У дисертаційній роботі було проведено експеримент, де викликали експериментальну нейродегенерацію двома різними речовинами впродовж 14 та 28 днів; після останнього дня введення скополаміну бутил броміду або нітриту натрію половині щурів вводили внутрішньовенно мезенхімальні стовбурові клітини. Нітритна модель нейродегенерації була вперше розроблена у даній роботі та ставить багато питань щодо впливу хронічної гемічної гіпоксії на головний мозок та весь організм людини.

Дисертанткою проведено глибокий аналіз змін морфофункціонального стану судин та нейропілю головного мозку та їхніх біохімічних показників. Здобувачка оволоділа методами оцінки поведінкових реакцій та когнітивних функцій щурів, гістологічними і мікроскопічними методами дослідження, а також методами біохімічного аналізу.

Поставлені наукові завдання виконані на високому методологічному рівні, а дисертантка оволоділа необхідними для рівня доктора філософії

компетенціями.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Результати і висновки проведеного дослідження суттєво доповнюють існуючу модель скополамін-індукованої деменції альцгеймерівського типу та завдяки порівняльному аналізу з нітрит-індукованою моделлю висвітлюють роль ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку хвороби Альцгеймера. Вивчений патогенез амілоїдозу головного мозку на тлі дії різних екзогенних пускових факторів дає можливість впровадити ці знання у медичну практику та розробити нові методи профілактики прогресування нейродегенеративних процесів.

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих з червоного кісткового мозку щурів, дало позитивний регенераторний ефект, що надихає на подальші дослідження, зокрема вивчення їх впливу впродовж тривалого періоду після їх одноразового введення, кратність їх введення, побічні ефекти на організм та впровадження в клінічну практику при лікуванні пацієнтів як з початковими ознаками деменції альцгеймерівського типу, так і у пацієнтів з прогресією захворювання.

Дані, отримані на моделях нейродегенерації, розширили наші уявлення про регенераторний потенціал власних клітин головного мозку з першого дня дії ушкоджуючих факторів і після припинення їх дії, що ще раз підтверджує наявність регенераторних можливостей організму та значимість припинення дії впливу патологічних факторів, у тому числі й екзогенних.

Отримані результати впроваджено в навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна та кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету (м. Харків), кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету (м. Харків), кафедри патологічної фізіології Вищого державного навчального закладу України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету (м. Одеса).

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

Дисертаційна робота викладена на 218 сторінках друкованого тексту, побудована за традиційною структурою, яка відповідає вимогам стандартів для оформлення результатів наукових досліджень і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, переліку використаної літератури (287 джерел), двох додатків (акти впровадження, патент на корисну модель). Робота ілюстрована 18 таблицями і 31 рисунками.

У вступі розкрито актуальність теми дисертаційної роботи; зв'язок роботи з науковою темою; представлено її мету та завдання, визначено об'єкт, предмет і методи дослідження, викладено наукову новизну, практичне значення отриманих результатів; висвітлено особистий внесок авторки у виконання роботи; наведено інформацію про їх апробацію та впровадження; дані про кількість публікацій за темою роботи; обсяг і структура дисертації.

У першому розділі, який присвячено огляду літератури, представлено глибокий аналіз сучасних уявлень про хворобу Альцгеймера, причини її виникнення та основні теорії її розвитку. Особливу увагу приділено різним сучасним експериментальним моделям хвороби Альцгеймера або деменції альцгеймерівського типу, висвітлено питання доцільності застосування мезенхімальних стовбурових клітин для корекції експериментальної хвороби Альцгеймера.

У другому розділі, який присвячено матеріалам і методам дослідження, детально та методично описано дизайн дослідження, обґрунтовано вибір

саме білих щурів-самців та використання скополаміну бутилброміду та нітриту натрію, строки їх введення та дози для відтворення нейродегенерації в експериментальних умовах. Надано опис методології оцінки поведінкових реакцій та когнітивних функцій щурів, представлено основні біохімічні, гістологічні, імуногістохімічні методи дослідження, методика отримання мезенхімальних стовбурових клітин з червоного кісткового мозку та оцінка їх міграції, а також методи статистичного опрацювання даних.

У третьому розділі дисертаційної роботи надаються результати дослідження, де висвітлюється поведінкові реакції та когнітивні функції, біохімічні параметри функції ендотелію судин, прооксидантно-антиоксидантної системи, енергетичного обміну, ступеня гіпоксії, вмісту ацетилхоліну, морфофункціональні зміни в тканині головного мозку у щурів групи контролю та з введенням скополаміну, без та після введення мезенхімальних стовбурових клітин.

У четвертому розділі авторкою показані особливості нітрит-індукованої деменції. Акцентується увага на судинному ушкодженні, ендотеліальній дисфункції судин головного мозку в щурів після 14-ти та 28-денного введення нітриту натрію. Описані когнітивні розлади, порушення поведінкових реакцій та їх відповідність морфофункціональним змінам у тканині головного мозку. Біохімічні показники мітохондріальної дисфункції, окислювального стресу, холінодефіциту, гіпоксії в головному мозку було вивчено для визначення ролі дисфункції ендотелію судин в механізмах розвитку експериментальної деменції.

У п'ятому розділі на основі проведеного порівняльного аналізу експериментальних моделей деменції між собою та з групою контролю, а також з результатами наукових досліджень вітчизняних та закордонних авторів, було розроблено схеми ролі ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку скополамін- та нітрит-індукованої деменції альцгеймерівського

типу.

Висновки логічно витікають з власних результатів і повністю відповідають завданням дослідження.

Практичні рекомендації викладені з урахуванням отриманих результатів та можуть бути використаними з метою профілактики виникнення та прогресування хвороби Альцгеймера, а також для морфологічної діагностики нейродегенеративних захворювань.

Принципових зауважень у дисертаційній роботі не встановлено.

Позитивно характеризуючи дисертацію в цілому, необхідно звернути увагу на деякі її недоліки.

1. У п'ятому розділі не бажано було надавати отриманий цифровий матеріал, зокрема щодо вмісту ацетилхоліну, АТФ, кардіоліпіну, ТБК-активних речовин, активності СОД і каталази, тощо. У цьому розділі необхідно було зосередитися на аналізі та узагальненні результатів дослідження.

2. Висновки зайве розлогі та не містять доказової цифрової інформації, фактично у скороченій формі описані отримані результати. Необхідно було висвітлити саме наукові результати роботи.

Ці недоліки не стосуються суті роботи і не зменшують загальну високу позитивну оцінку дисертації.

У порядку наукової дискусії виникла низка запитань:

1. Чому саме терміни 14 та 28 діб обрані як контрольні точки у даному дослідженні?

2. При внутрішньовенному введенні мезенхімальних стовбурових клітин, переважна їх більшість осідають у судинах легень. Чи враховували ви цю особливість способу введення клітин при аналізі отриманих результатів?

3. Модель з тривалим введенням нітриту натрію є моделлю хронічної гемічної гіпоксії. Отже, фактично Вами досліджено вплив цього типу гіпоксії

на процеси нейродегенерації у головному мозку. У хворих на хворобу Альцгеймера гіпоксія переважно пов'язана з порушенням мікроциркуляції і метаболізму. Як на Вашу думку, чи можна вважати гемічну гіпоксію одним з факторів патогенезу хвороби Альцгеймера?

4. У Вашому дослідженні надано опис запальних реакції, що розгорталися у головному мозку, зокрема у обох моделях описані осередки макрофагальної інфільтрації в білій речовині та періваскулярно. Поясніть, будь ласка, особливості нейрозапалення та їх можливі механізми при застосованих експериментальних моделях.

5. Які особливості регенерації нейронів після введення мезенхімальних стовбурових клітин Ви виявили при морфологічному дослідженні тканини головного мозку?

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Морфометричні та гістохімічні методики вивчення функціонування нейропілю та судинних клітин мають перспективу подальшого застосування у практиці гістологів і патоморфологів. Практичне значення мають визначені наслідки впливу тривалої гемічної гіпоксії на функцію ЦНС та структурні порушення головного мозку. Практичне застосування можуть знайти методики отримання стовбурових клітин від щурів та способи їх культивування. Перспективу продовження досліджень мають результати впливу введення стовбурових клітин за умов екзогенно викликаної нейродегенерації головного мозку.

Отримані дані можуть бути використані при плануванні подальших наукових досліджень в галузі регенеративної медицини, нейрофізіології, а також в клінічній практиці, звертаючи особливу увагу на ушкодження ендотелію судин, мембран мітохондрій, нейропілю великих півкуль головного мозку.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

Дисертаційна робота Лук'янової Євгенії Михайлівни була перевірена на наявність академічного плагіату. Було встановлено, що робота має 11,8% схожості з джерелами з Інтернету, 1,51% цитат, 0% вилучень, присутні модифікації тексту. Відповідно коефіцієнт оригінальності становить вище 70% (за інтернет-системою Unicheck.com).

Таким чином, у даній роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Лук'янової Євгенії Михайлівни на тему «Роль ендотеліальної дисфункції в механізмах розвитку скополамін- та нітрит-індукованої деменції альцгеймерівського типу у щурів», яка представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Патологічна фізіологія», є завершеною самостійною науковою роботою.

Робота є кваліфікаційною науковою працею, в якій містяться нові науково обґрунтовані результати проведених здобувачкою досліджень, які розв'язують конкретне наукове завдання, що має істотне значення для медичної науки, а саме – уповільнення прогресування нейродегенеративних станів та запуск регенераторних процесів у тканині головного мозку за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин у щурів зі скополамін- та нітрит-індукованою деменцією.

За методичним рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною результатів, повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових конференціях, конгресах, а також відсутністю ознак порушення академічної доброчесності, дисертаційна робота Лук'янової Євгенії Михайлівни відповідає вимогам до оформлення дисертації відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про

затвердження Вимог до оформлення дисертації», а також вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р., а її авторка – присудженню ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Патологічна фізіологія».

Офіційний опонент:

в.о. завідувача кафедри
патофізіології Національного
медичного університету
імені О.О. Богомольця,
д.мед.н., професор

С.В. Зябліцев



Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 21:37:58 15.05.2023

Назва файлу з підписом: Відгук Зяблицев.PDF.asice
Розмір файлу з підписом: 1.9 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Відгук Зяблицев.PDF
Розмір файлу без підпису: 1.9 МБ

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

Підписувач: ЗЯБЛИЦЕВ СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ
П.І.Б.: ЗЯБЛИЦЕВ СЕРГІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ
Країна: Україна
РНОКПП: 2394800615
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 21:37:54
15.05.2023
Сертифікат виданий: АЦСК АТ КБ «ПРИВАТБАНК»
Серійний номер: 2B6C7DF9A3891DA104000000CA6CD3004A359D03
Алгоритм підпису: ДСТУ-4145
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)
Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)
Сертифікат: Кваліфікований