

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України Хари Марії Романівни на дисертаційну роботу Ісаченко Марії Ігорівни «Характеристика маркерів ремоделювання міокарда лівого шлуночка і стану системи оксиду азоту при фізіологічних впливах та експериментальних патологічних станах», представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 17.600.020 Запорізького державного медичного університету, що утворена наказом МОН України від 20.01.2021р. № 72 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Актуальність теми дисертаційної роботи. Різні стресові та іншого генезу впливи на організм людини передбачають аналогічний вплив і на серце, яке незалежно від характеру такого впливу (гіпоксія, гемодинамічні розлади, нейрогуморальні збурення та посередники реалізації запалення) навіть за відсутності клінічних проявів сприяють активації структурної перебудови міокарда, в тому ж числі й ремоделювання, що передбачає функціональну адаптацію серцевого м'яза задля виконання функції в змінених умовах життя. Для ефективного діагностування та якісного прогнозу перебігу захворювань серцево-судинної системи важливо не лише виявляти ознаки структурної перебудови, але й оцінювати їх в контексті доцільності, тобто прогнозувати негативні наслідки. Саме тому експериментальне дослідження впливу різних за етіологією та патогенезом факторів на характер структурних змін у міокарді, визначення ключових ланок патогенезу та роль регуляторних систем є актуальним питанням в експериментальній та клінічній кардіології. З огляду на важливу роль системи монооксиду нітрогену в патогенезі серцевої недостатності цікавими є наукові пошуки, спрямовані на встановлення молекулярних та структурних маркерів такої перебудови. На сьогоднішній день є дані, які демонструють більш благоприємний перебіг артеріальної гіпертензії в мешканців високогір'я, що пов'язують з меншим проявом ендотеліальної дисфункції та позитивним впливом системи монооксиду нітрогену. Проте, клінічні дослідження є більш обмеженими в плані доступності основного матеріалу – міокарда пацієнтів. Тому висновки робляться лише за параметрами функціонування серця та показниками крові, що не завжди об'єктивно відображає сутність процесу, який відбувається в самому серці. Велика відповідальність за встановлення більш детальних патогенетичних ланок участі системи монооксиду нітрогену в адаптації серця до високого рівня артеріального тиску чи гіпоксії покладається на експеримент, який має дати відповіді на значну кількість питань. Адже, встановлення невідомих молекулярних механізмів ремоделювання міокарда показує нові діагностичні та лікувальні мішені. Зважаючи на сказане та відсутність наукових даних, які б давали відповідь на поставлені дисертанткою питання, обрану для дослідження тему слід визнати не лише актуальною, але й перспективною.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами
Дисертація є частиною науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України «Роль пептидергічних структур гіпоталамусу та стовбуру мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії» (№ державної реєстрації 0117U002579), термін виконання 2017-2019 р.р.

3. Наукова новизна дослідження та одержаних результатів

Уперше на експериментальних моделях гіпоксії різної тривалості та артеріальної гіпертензії різного генезу досліджено характер морфо-структурних змін у міокарді лівого шлуночка щурів, встановлено ключові ланки їхнього патогенезу та доведена патогенетична роль системи монооксиду нітрогену. Уперше встановлено, що 15-денна гіпоксія сприяє розвитку помірної гіпертрофії кардіоміоцитів, зниженню інтенсивності їхньої загибелі та підвищенню пружно-еластичних властивостей. Структурна перебудова в серцевому м'язі відбувається на тлі збільшення показників експресії мРНК до усіх 3-х ізоформ NOS у міокарді, зниження вмісту імунореактивного матеріалу до pNOS, помірного збільшення eNOS з переважанням iNOS, що супроводжується підвищенням рівнів нітритів та нітротирозину.

Доведено, що довготривала гіпоксія (60 діб) призводить до ремоделювання міокарда з суттєвою гіпертрофією кардіоміоцитів; збільшенням жорсткості міокарда, значним фіброзом та масивним апоптозом. Такі зміни відбуваються на тлі порушеного співвідношення ізоформ NOS, характеризуються збільшеною експресією конститутивних форм і зниженою індукційною при значному збільшенні мРНК усіх 3-х ізоформ; посиленням системного нітрато-окисного стресу зі зниженням рівня нітритів та значним збільшенням вмісту нітротирозину в плазмі крові.

Встановлено, що артеріальна гіпертензія, як есенціальна, так ендокринно-сольова, викликає ремоделювання міокарда, що підтверджується збільшенням маси серця, його питомої щільності та показників експресії усіх 4-х маркерів ремоделювання. Уперше встановлено відмінності морфо-структурної перебудови серцевого м'яза, що в щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією характеризуються помірною апоптотичною активністю з гіпертрофією кардіоміоцитів, фіброзом та підвищеною жорсткістю міокарда, в той час як при експериментальній ендокринно-сольовій моделі артеріальної гіпертензії характерним є виражений апоптоз і гіпертрофія кардіоміоцитів на тлі сформованого фіброзу з високою жорсткістю міокарда.

У проведеному дослідженні вперше встановлено, що при артеріальній гіпертензії зміни ізоформного профілю ферменту NOS міокарда в моделі есенціальної артеріальної гіпертензії демонструють збільшення вмісту імунореактивного матеріалу до всіх видів NOS, але більшою мірою до iNOS при одночасному зростанні показників мРНК усіх 3-х ізоформ, збільшений уміст нітритів і нітротирозину. При ендокринно-сольовій моделі артеріальної гіпертензії стан системи NO також характеризується суттєвим збільшенням експресії мРНК до всіх ізоформ NOS, збільшенням імунореактивного матеріалу

до них у міокарді, особливо nNOS при зменшенні умісту стабільних форм NO нітритів та збільшенням нітротирозину.

4. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження

У дисертаційній роботі експериментально доведено, що ремоделювання міокарда розвивається як в умовах гіпоксії, так і за умов артеріальної гіпертензії, а характер співвідношення маркерів ремоделювання та стан системи монооксиду нітрогену залежать від етіології артеріальної гіпертензії та тривалості гіпоксичного впливу.

Розроблено інформативні критерії характеру ремоделювання міокарда в експерименті та визначено, що короткотривала переривчаста гіпоксія викликає гіпертрофію міокарда, при якій збільшуються пружно-еластичні його властивості, при незначній інтенсивності загибелі кардіоміоцитів. Водночас, довготривала гіпоксія призводить до ремоделювання міокарда за фіброзно-апоптотичним типом з вираженою гіпертрофією, фіброзом, збільшенням жорсткості міокарда та інтенсивно вираженим апоптозом кардіоміоцитів. Артеріальна гіпертензія, незалежно від етіології, ініціює ремоделювання міокарда, характер якого має модельні відмінності: у випадку з есенціальною – це гіпертрофічно-фіброзний тип ремоделювання з помірно вираженими процесами апоптозу, при ендокрино-сольовій – гіпертрофічно-апоптотичний тип.

Авторкою дослідження обґрунтована патогенетична роль системи монооксиду нітрогену в ремоделюванні міокарда при впливах на серцево-судинну систему, що характеризується підвищенням мРНК усіх 3-х ізоформ NOS на тлі збільшення концентрації нітротирозину в плазмі щурів. Доведена етіопатогенетична залежність змін ізоформного профілю NOS при тривалих гіпоксичних впливах і артеріальній гіпертензії, що призводить до зменшення рівня нітритів на фоні збільшення нітротирозину.

Нові теоретичні положення дисертації впроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, Харківського національного медичного університету МОЗ України, Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, Запорізького державного медичного університету МОЗ України, на кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України та в роботі навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету МОЗ України.

5. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій сформульованих в дисертації

Робота виконана на високому науковому і методичному рівні. Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків сформульованих у дисертації є високі, що підтверджується достатнім обсягом первинних джерел інформації на всіх етапах дослідження, адекватною сучасною статистичною обробкою даних, що дозволило отримати результати високого ступеня вірогідності для

розв'язання поставлених завдань та досягнення мети дослідження. Дисертанткою вивчені та критично проаналізовані відомі досягнення і теоретичні положення, що існують в сучасній літературі з питань патогенезу ремоделювання міокарда лівого шлуночка серця при впливах інтервальної гіпоксії і артеріальній гіпертензії різного генезу. Дизайн та сформовані експериментальні групи, методологія, сучасні та інформативні методи наукового дослідження дозволяють вирішити поставлені завдання та досягти поставленої мети. Результати дослідження отримані на достатній кількості експериментального матеріалу. Статистичні методи досліджень підібрані адекватно.

Виходячи з вищевикладеного, можна стверджувати, що наукові положення та висновки, сформульовані в дисертаційній роботі, є обґрунтованими, логічно витікають зі змісту дослідження, мають високу наукову і практичну цінність і сумнівів не викликають.

6. Відповідність змісту дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота викладена на 233 сторінках друкованого тексту, написана в класичному стилі і складається з анотації, списку друкованих праць, де висвітлено результати наукового дослідження, вступу, огляду літератури, опису методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків.

У вступі коротко сформульовано суть дисертаційного дослідження, його актуальність, мету та завдання, наукова новизна, значення отриманих результатів.

У розділі 1 (огляді літератури) представлено сучасні погляди на етіологію й патогенез ремоделювання міокарда лівого шлуночка, роль у формуванні структурних змін таких патологічних впливів, як гіпоксія та артеріальна гіпертензія, участь системи монооксиду нітрогену. При цьому робиться акцент на дискусійних та недостатньо вивчених питаннях, що дозволяє продемонструвати актуальність власного дослідження.

У розділі 2 наведено дизайн дослідження, повний та точний опис застосованих у роботі методів, використаних інструментів та реагентів.

У розділі 3, який складається з 3-х підрозділів, представлені результати дослідження морфо-функціональних параметрів серця щурів, що перебували в умовах інтервальної гіпоксії різної тривалості (15 і 60 діб) та тварин з есенціальною і ендокринно-сольовою моделями артеріальної гіпертензії. Аналіз передбачав оцінку артеріального тиску, масометричні, морфо-денситометричні параметри лівого шлуночка для підтвердження та встановлення характеру ремоделювання міокарда.

У розділі 4 представлено результати проведених досліджень маркерного профілю ремоделювання міокарда лівого шлуночка щурів усіх експериментальних груп при різних за видом та тривалістю впливів. Отримані результати показали, що для діагностування та прогнозування перебігу

захворювань серцево-судинної системи необхідне не лише виявлення ознак ремоделювання, як явища, але й диференціювати його за ступенем вираженості та спрямованістю змін «геометрії» серця. У даному розділі досліджено патерн експресії маркерів ремоделювання, характер експресії кардіотрофіну-1, колагену I типу, тайтину (білка, що входить до складу саркомеру кардіоміоцитів, забезпечує цілісність і модулює пасивне напруження) та анексину V (маркер молекулярної візуалізації апоптозу).

У чотирьох підрозділах 5-го розділу наведено результати дослідження системи NO, проаналізовано результати визначення вмісту мРНК ізоформ NOS, нітритів та нітротирозину у гомогенатах міокарда.

У розділ 6 проведено аналіз отриманих результатів дослідження, порівняння їх з даними інших авторів. Авторка формує власний погляд на патогенетичні особливості ремоделювання за різних модельних умов та дає оцінку інформативності параметрів функціонування системи монооксиду нітрогену.

Дисертація завершується добре сформульованими висновками, які повною мірою відображають встановлені закономірності, та переліком використаних наукових джерел у кількості 249 (з них 23 – кирилицею, 226 – латиною), серед яких більшість складають публікації останніх років, оформлених згідно вимог.

У додатках подано акти впровадження, перелік друкованих праць та дані про апробацію результатів наукового дослідження.

Дисертація ілюстрована 23 таблицями та 41 рисунком.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях

За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць: 6 статей, серед яких 3 статті в журналах, що індексуються міжнародними наукометричними базами (Web of Science); 2 статті в закордонних журналах, 1 стаття в науковому фаховому виданні України, 7 тез у матеріалах міжнародних і Всеукраїнських з'їздів і науково-практичних конференцій. Матеріали дисертації були оприлюднені на 11 конференціях і конгресах у формі виступів. За матеріалами дисертації було отримано 3 гранти.

8. Завершеність дисертаційної роботи та зауваження щодо її змісту та оформлення.

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням з чітко сформульованою метою, якісно вирішеними завданнями завдяки чіткій методології та коректному підбору методів дослідження. У виконаній роботі витримана послідовність наукового пошуку з наступним порівняльним аналізом отриманих даних та коректними висновками. Тому отримані результати не викликають сумнівів. Текст дисертації, стиль викладу основних положень свідчить про зрілість дисертантки. Щоправда, в тексті зустрічаються окремі стилістичні та орфографічні погрішності. Проте, це не впливає на наукову цінність отриманих результатів та положень, що виносяться на захист.

У плані наукової дискусії хочеться знати думку дисертантки стосовно наступних положень:

1. Використання 2-х моделей інтервальної гіпоксії різної тривалості показало різну морфо-структурну реакцію міокарда. За умов короткочасної

відбувалася гіпертрофія міокарда лівого шлуночка, за довготривалої – його ремоделювання з посиленням фіброзу. Які показники можуть бути маркерами переходу адаптації в компенсацію, тобто переходу фізіології в патологію?

2) Чому серед усіх газотрансмітерних систем пріоритет у вашому дослідженні було віддано монооксиду нітрогену, чи варто розглядати виявлені ефекти результатом ізольованого впливу NO, чи все ж таки це є результатом комплексних змін усіх газотрансмітерів.

3) Чим можна пояснити велику варіативність тайтин-колагенового співвідношення, особливо з урахування експериментальної моделі?

4. Враховуючи той факт, що за вашими результатами довготривале інтервальне гіпоксичне навантаження викликає ремоделювання міокарда, характер якого подібний до такого за двох варіантів експериментальної артеріальної гіпертензії, як Ви можете пояснити відомий факт, що в жителів високогір'я перебіг артеріальної гіпертензії є більш благоприємний, ніж в жителів рівнин?

Вказані недоліки та зауваження не стосуються принципів положень, які виносяться на захист, не знижують теоретичної і практичної цінності отриманих результатів наукового дослідження, а сформульовані питання підтверджують не лише актуальність теми, але й перспективність наукових досліджень аналогічного спрямування.

Висновок

Дисертаційна робота Ісаченко Марії Ігорівни на тему: «Характеристика маркерів ремоделювання міокарда лівого шлуночка і стану системи оксиду азоту при фізіологічних впливах та експериментальних патологічних станах» є завершеним науковим дослідженням, яке за актуальністю, новизною, теоретичною і практичною цінністю отриманих результатів відповідає вимогам, передбаченим п. 10, 11 «ПОРЯДКУ проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 року (зі змінами, внесеними відповідно до Постанови Кабінету Міністрів України від 21 жовтня 2020 року № 979), відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», а її авторка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент:
професор кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

Хара М.Р.

особистий підпис

заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

