

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, професора кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету

Павлової Олени Олексіївни

на дисертаційну роботу **Кметь Ольги Гнатівни** на тему:
«Патогенетичне обґрунтування ефективності модуляторів ГАМК-ергічної та ренін-ангіотензинової систем при експериментальній нейродегенерації»,
подану у спеціалізовану вчену раду Д 76.600.02 Буковинського державного медичного університету МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю **14.03.04 – патологічна фізіологія**

Актуальність теми дослідження

Зі збільшенням тривалості життя і кількості людей літнього віку в нашій країні і світі, все більшої актуальності набуває підвищення у загальній популяції кількості осіб з нейродегенеративними захворюваннями, які призводять до втрати пам'яті, розвитку глибокої деменції (деградації пам'яті, мислення, поведінки, орієнтації), як при хворобі Альцгеймера, що створює суттєву медико-соціальну проблему, і потребує значних фінансових витрат, в умовах відсутності ефективних методів лікування. Проаналізовані дисертанткою дані численних наукових досліджень вказують на наявність загальних для нейродегенеративних захворювань механізмів розвитку і перебігу, проте відсутність єдиної теорії спонукає продовжувати дослідження щодо з'ясування механізмів прогресування і розробки методів медикаментозної корекції.

Відомо, що при нейродегенеративних захворюваннях у різних структурах головного мозку виникають порушення у функціонуванні основних нейромедіаторних (дофамін-, холін-, глутамат- і γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) -ергічної,) і нейрогуморальних систем (ренін-ангіотензинової) та ін. Нейромедіатором, від якого залежить баланс між збудженням і гальмуванням, обмінні процеси, енергозабезпечення, стійкість головного мозку до гіпоксії, є саме ГАМК. Отже, дисертантка припускає, що пошук речовин здатних в умовах дисбалансу, ефективно моделювати активність ГАМК-ергічної трансдукції можуть зайняти чільне місце серед засобів здатних уповільнювати прогресування

нейродегенерації. Приймаючи до уваги тісний взаємозв'язок між ангіотензиновими і холінергічними рецепторами в корі та гіпокампі, а також між активністю нейромедіаторних систем головного мозку та ренін-ангіотензиною системою, актуальним є визначення ролі цих ланок у розвитку когнітивних розладів.

В дисертаційному дослідженні Кметь Ольги Гнатівни на різних експериментальних моделях, в умовах зниження центральних холінергічних впливів, саме визначення ролі ГАМК-ергічної та ренін-ангіотензинової системи в механізмах розвитку нейродегенеративних процесів стало визначальним, а пошук нових шляхів корекції, спрямованих на відновлення нейронних зв'язків і отримання позитивної динаміки показників когнітивної здатності – пріоритетним.

Наведене свідчить, що дисертаційне дослідження Кметь Ольги Гнатівни присвячене вивченню нейропротективних властивостей модулятора ГАМК-ергічної системи – карбацетама та блокатора ренін-ангіотензинової системи – еналаприлу для обґрунтування нових патогенетичних напрямів медикаментозної корекції при розвитку центральної нейродегенерації різного генезу є актуальним і своєчасним як у науковому, так і в практичному аспектах.

Зв'язок теми дисертації з плановими науковими дослідженнями та науковими програмами.

Дисертаційне дослідження Кметь Ольги Гнатівни є фрагментом науково-дослідної роботи НДЛ закладу вищої освіти Буковинський державний медичний університет за темою «Нові технології діагностики та патогенетичного лікування дисфункції проксимального відділу нефрона за умов розвитку системного і ниркового класичного та дизрегуляційного патологічних процесів» (державний реєстраційний № 0120U102805). Авторка була співвиконавцем вище зазначеної науково-дослідної роботи.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Робота виконана на сучасному науково-методологічному рівні, ґрунтується

на достатньому за обсягом експериментальному матеріалі (загалом 350 нелінійних щурів-самців) з використанням високоінформативних методів дослідження. Достовірність отриманих в дисертації результатів забезпечена вірним методологічним та методичним підходами: патофізіологічні (моделювання у щурів нейродегенерації блокадою центральних холінергічних впливів скополаміном та цукровим діабетом 2 типу); біохімічні (визначення в корі головного мозку і гіпокампі показників стану мітохондрій, про- і антиоксидантної системи, системи оксиду азоту та фібринолізу/протеолізу); фармакологічні (застосування модулятора ГАМК-рецепторів карбацетаму та інгібітора ренін-ангіотензинової системи еналаприлу); морфологічні (дослідження структурних змін кори головного мозку та гіпокампа); математико-статистичні (статистична обробка одержаних даних), методики обрані відповідно до логіки дослідження, є сучасними та методологічно обґрунтованими. Етапи дослідження виконані відповідно загальної ідеї роботи і є послідовними. Перед початком дослідження визначені критерії включення щурів в дослідження, задеклароване дотримання біоетичних принципів експериментального дослідження з використанням тварин, що засвідчено відповідними документами комісії з біоетики. Групи спостереження створені адекватно сформульованій меті і завданням у відповідності із вимогами для коректності статистичної обробки результатів дослідження. Отримані результати дослідження, що представлені у таблицях і рисунках докладно описані в тексті дисертації і повністю відображають обсяг проведених досліджень.

Статистична обробка отриманих результатів дослідження проведена дисертанткою на сучасному рівні з використанням параметричних і непараметричних методів статистики за допомогою програм EXCEL з пакету MS Office 2007 (Microsoft Corp., США), пакету STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Таким чином, сучасний методичний рівень роботи, відповідність вибірки критеріям репрезентативності, висока інформативність використаних методів дослідження та адекватність статистичного аналізу дозволяють вважати

результати дослідження, наукові положення, висновки і рекомендації достовірними та науково обґрунтованими.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів

У дисертаційній роботі вперше за даними комплексного і порівняльного аналізу на експериментальних моделях нейродегенерації, спричинених блокадою центральних холінергічних впливів скополаміном та цукровим діабетом 2 типу, було досліджено взаємодії таких ланок патогенезу нейродегенеративних захворювань як прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, мітохондріальна дисфункція, стан системи оксиду азоту, показників фібринолітичної та протеолітичної активності тканини кори головного мозку та гіпокампа – зміни стану яких, за даними дослідження є важливими прогностичними ознаками процесу тканинної трансформації при нейродегенеративних захворюваннях. Авторкою наукової роботи вперше встановлена відповідність змін між поведінкою тварин, біохімічними змінами та морфофункціональним станом тигроїдної субстанції нейронів в головному мозку щурів. Визначення на різних моделях нейродегенерації ролі окремих патогенетичних механізмів в їх розвитку і прогресуванні окреслило основні напрямки терапевтичного впливу. Дисертанткою вперше з'ясовано, що багаторазове (14-денне) внутрішньочеревне введення субстанції карбацетаму та інгібітора ангіотензинперетворюючого ферменту – еналаприлу, проявляють модулюючий вплив на тіол-дисульфідну систему, знижують інтенсивність деструкції кори головного мозку та гіпокампа через покращення функціонального стану всіх досліджуваних систем. Доведена захисна нейропротекторна дія модулятора ГАМК-рецепторів карбацетаму і цитопротекторно-нейротропна – інгібітора АПФ – еналаприлу, завдяки його впливу на активність ренін-ангіотензинової системи.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження

Виконана робота є фундаментальним дослідженням. Одержані авторкою результати роботи становлять істотний практичний інтерес для нейрофізіології, клінічної неврології, психіатрії, регенераторної медицини, а також у роботі

науково-дослідних лабораторій відповідного спрямування. Вивчений на двох експериментальних моделях патогенез нейродегенерації, спричинений блокадою центральних холінергічних впливів скополаміну гідрохлориду та цукрового діабету 2 типу у щурів є безумовно корисним для науковців у галузі патологічної фізіології, фармакології та інших фундаментальних наук, а отримані в роботі дані, щодо нейропротективних властивостей – модулятора ГАМК-рецепторів – карбацетами і цитопротекторних – інгібітора АПФ – еналаприлу є передумовою для патогенетичного обґрунтування розробки нових терапевтичних напрямків в лікуванні різних за етіологією нейродегенеративних захворювань. Впровадження отриманих результатів у клінічну практику потребує подальших досліджень для визначення адекватної дози, кратності, тривалості та шляхів введення зазначених препаратів.

Проблема нейродегенеративних процесів потребує системного підходу при диференціальній діагностиці, тому запропонований дисертанткою новий метод індукції «дерева рішень», дозволяє покращити сприйняття залежності між показниками, визначити ключові ланки патогенезу і обґрунтувати доцільність застосування необхідних методів терапевтичного впливу.

Практична значущість отриманих результатів підтверджується впровадженням основних положень та висновків наукових досліджень Кметь Ольги Гнатівни у науковий та навчально-педагогічний процес кафедр: патологічної фізіології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, м. Київ (протокол № 10 від 17.01.2022), фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, м. Тернопіль (протокол № 3 від 24.03.2022), патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці (протокол № 14 від 15.04.2022), біохімії та фармакології ДВНЗ «Ужгородський національний університет» м. Ужгород (протокол № 9 від 18.04.2022), фармакології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, м. Львів (протокол № 10 від 19.04.2022), фармакології

Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця (протокол № 17 від 25.04.2022), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Полтавського державного медичного університету, м. Полтава (протокол № 17 від 27.04.2022). Одержані результати також можуть бути корисними під час написання навчально-методичної, наукової літератури,

Оцінка змісту і структури дисертації

Дисертаційна робота написана державною мовою на 391 сторінках комп'ютерного тексту. Робота побудована за загальноприйнятим планом та оформлена відповідно до існуючих вимог, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури, додатків. Дисертація проілюстрована 35 таблицями та 96 рисунками. Список використаних джерел включає 596 найменувань вітчизняних та зарубіжних авторів (16 – кирилицею, 410 – латиницею).

В *анотаціях* стисло представлені основні результати проведеного дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У *вступі* визначена актуальність вибраного авторкою напрямку дослідження, зазначений зв'язок дисертаційної роботи з науково-дослідними роботами, чітко сформульована мета та визначені завдання дослідження, зазначені об'єкт, предмет та методи дослідження. Представлено також інформацію щодо наукової новизни та практичного значення одержаних результатів, впровадження матеріалів дослідження, апробації результатів дослідження, кількості опублікованих наукових праць, обсягу та структури дисертації.

Перший розділ дисертаційної роботи присвячений огляду літератури з досліджуваної проблеми. Даний розділ складається з трьох підрозділів. У огляді літератури представлені сучасні уявлення щодо стану проблеми, соціально-економічного значення та чинників ризику розвитку, також представлені теорії

виникнення та науково доведені на сьогоднішній день загальні для всіх нейродегенеративних захворювань патогенетичні механізми і сучасні напрями їх фармакотерапії. Проведений аналіз даних літератури свідчить, що дисертантка ретельно опрацювала сучасну літературу, яка стосується предмету дисертаційного дослідження. Огляд літератури завершується висновком стосовно подальших перспективних досліджень з вибраного напрямку.

У *другому розділі* «Матеріали та методи дослідження» авторкою докладно представлено характеристику залучених до експериментальних досліджень лабораторних тварин, з розподілом їх на групи і детально описані моделі нейродегенерації індукованої скополаміном гідрохлоридом та цукровим діабетом 2 типу. Викладено методи оцінки поведінкових реакцій та когнітивних функцій у щурів; відображені основні біохімічні методи дослідження стану прооксидантно-антиоксидантної системи та системи оксиду азоту, маркерів нейронального ушкодження (фібринолізу/протеолізу) та енергозабезпечення мітохондрій; представлені основні морфологічні методи дослідження мікропрепаратів кори головного мозку та гіпокампа, стисло описана методика введення та дози модулятора ГАМК-рецепторів та інгібітора ренін-ангіотензинової системи. Даний розділ також віддзеркалює застосовані авторкою сучасні, високоінформативні методи математично-статистичного аналізу які їй дозволили їй отримати достовірні та науково-обґрунтовані висновки.

Третій розділ дисертації складається з 4-х підрозділів в яких представлені результати власних досліджень, щодо оцінювання функціонального стану центральної нервової системи (поведінкових реакцій та когнітивних функцій) у щурів із індукованою скополаміном і цукровим діабетом 2 типу нейродегенерацією, без та після введення карбацетаму та еналаприлу і співставлені показники рівня тривожності, рухової, орієнтовно-дослідницької, емоційної активності та пам'яті в відповідних групах.

У *четвертому розділі*, в 4-х підрозділах представлені дані морфологічних досліджень, обґрунтовано застосування різних забарвлень гістологічних

препаратів мозку і висвітлені морфологічні зміни кори та гіпокампа щурів з двома моделями нейродегенерації, без корекції та на тлі багаторазового (14-денного), внутрішньоочеревинного введення модулятора ГАМК-рецепторів – карбацетама, та інгібітора ренін-ангіотензинової системи – еналаприлу, які продемонстрували нейропротекторні ефекти.

П'ятий і шостий розділи дисертації складаються з 4-х підрозділів кожний, де вивчено особливості змін показників прооксидантно-антиоксидантної системи, системи оксиду азоту, фібринолізу/протеолізу, мітохондріального стану кори головного мозку та гіпокампа і показана їх роль в механізмах скополамін-індукованої нейродегенерації у щурів без корекції, та на тлі введення карбацетама (5-й розділ) та еналаприла (6-й розділ).

Сьомий і восьмий розділи дисертації також складаються з 4-х підрозділів кожний, де досліджені особливості стану прооксидантно-антиоксидантної системи, системи оксиду азоту, фібринолізу/протеолізу, мітохондріального стану кори головного мозку та гіпокампа і проаналізовано їх роль в механізмах розвитку індукованої цукровим діабетом 2-го типу нейродегенерації у щурів на тлі корекції карбацетамом (7-й розділ) та еналаприлом (8-й розділ)

Дев'ятий розділ є завершальним, авторка з розумінням піднятої проблеми проводить аналіз отриманих результатів, порівнює їх з даними інших авторів які працюють у даному напрямку, піднімає дискусійні питання та адекватно їх вирішує. В даному розділі сконцентровані основні, найбільш важливі положення роботи. Авторкою запропоновано використання метода «дерева рішень», завдяки якому отримані експериментальні дані з описом об'єктів і залежності між показниками різних груп зберігаються в компактній формі у вигляді ієрархічної структури. Також запропонована схема де представлені основні патогенетичні ланки розвитку центральної нейродегенерації індукованої введенням скополаміну гідрохлориду і цукровим діабетом 2 типу та обґрунтована доцільність використання модулятора ГАМК-ергічної системи – карбацетама та блокатора ренін-ангіотензинової системи – еналаприлу, щодо корекції цього стану.

Висновки Представлено 11 висновків, які логічно виходять з результатів дисертаційного дослідження, та повністю відповідають його меті та завданням, є науково-обґрунтованими і повно висвітлюють результати і основні положення дисертаційного дослідження.

Список використаних джерел оформлений відповідно до існуючих вимог. Основна частина джерел є сучасною.

У *додатках* автором наведено список публікацій за темою дисертації, відомості про апробацію результатів дослідження на науково-практичних конференціях та акти впровадження результатів дисертаційного дослідження у науково-педагогічний процес,

За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації. Дисертація відповідає вимогам академічної доброчесності.

Повнота матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях

За темою дисертаційної роботи опубліковано 56 друкованих робіт, в яких повністю відображається зміст проведених досліджень: зокрема, у 22 статтях, в тому числі 10 – у виданнях включених до наукометричної бази Scopus та 5 – Web of Science, 7 – у наукових фахових виданнях України; 34 – публікаціях в матеріалах і тезах доповідей з'їздів, конгресів, науково-практичних конференцій. Результати роботи відображені в PubMed, апробовані й неодноразово доповідались на наукових форумах різного рівня.

Опубліковані наукові праці в повній мірі віддзеркалюють обсяг та зміст матеріалу дисертаційної роботи.

Матеріали для наукової дискусії та зауваження.

Дисертаційна робота Кметь Ольги Гнатівни виконана згідно з чинними вимогами МОН України і заслуговує позитивної оцінки. Принципових недоліків щодо змісту, структури, оформлення представленої дисертації немає.

В мене виникли окремі зауваження:

1. Зустрічаються стилістичні та орфографічні помилки, невдалі вислови;
2. У розділі 2 «Матеріал та методи дослідження», підрозділ 2.2, слід було б вказати не тільки загальну кількість тварин (350 особин), що беруть участь в експерименті загалом, але і кількість тварин у основних експериментальних групах та групах контролю.
3. Бажано було б (розділ 2), обґрунтування вибору дози стрептозотоцину, для відтворення індукованої цукровим діабетом 2-го типу нейродегенерації, відобразити у підрозділі 2.3 («Моделювання нейродегенерації...»), а не 2.6, який відповідно до своєї назви, має містити інформацію про критерії, що підтверджують її виникнення.
4. В підписах до рисунків з морфоструктурою підшлункової залози не зазначено чим були пофарбовані гістологічні зрізи.

Зауваження, які виникли при аналізі дисертації, мають редакційний характер, не ставлять під сумнів її результати і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

У процесі рецензування виникли запитання дискусійного характеру:

1. Вами зазначено, що за літературними даними, діапазон дозування модулятора ГАМК-ергічної системи – карбацетаму, коливається від 3.0 до 20.0 мг/кг. Отже, його ефекти можуть бути дозозалежними. Чому Ви вибрали дозування із розрахунку 5 мг/кг?

2. З чим пов'язано, що верифікація, індукованого введенням стрептозотоцину цукрового діабету 2-го типу у щурів (визначення рівня глюкози в крові), проводилась лише на 10-ту, 80-ту добу і безпосередньо перед виведенням тварин з експерименту. Чи може подібний моніторинг бути інформативним?

3. Поясніть будь ласка, про що свідчить поява нейронів з ознаками каріопікнозу в корі головного мозку та гіпокампі у щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією і чим можна пояснити зменшення кількості

таких нейронів (з каріопікнозом) на тлі введення інгібітора АПФ – еналаприлу?

4. Які, на Вашу думку зміни поведінкових реакцій та когнітивних функцій у щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією, слід очікувати від сумісного використання карбацетаму і еналаприлу?

5. За рахунок яких механізмів під впливом модулятора ГАМК-рецепторів – карбацетаму відбувається відновлення активності системи антиоксидантного захисту (СОД, каталази) у досліджуваних структурах головного мозку щурів із скополамін-індукованою нейродегенерацією? Чи можна очікувати більш виразний ефект при збільшенні дози і тривалості введення препарату?

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.

Матеріали дисертаційної роботи Кметь Ольги Гнатівни вирішують актуальну наукову проблему патологічної фізіології та клінічної медицини, основні положення роботи є інформативними і рекомендовані для впровадження у навчальну діяльність вищих медичних закладів при викладанні розділів загальної патофізіології, патофізіології ендокринної та нервової системи, патоморфології, фармакології, лабораторної діагностики. Клінічна спрямованість висновків дисертаційної роботи, де представлено патогенетичне обґрунтування використання модулятора ГАМК-рецепторів і інгібітора ренін-ангіотензинової системи для фармакологічної корекції різних за етіологією нейродегенеративних захворювань, має певне практичне значення для розробки нових терапевтичних підходів в їх лікуванні.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Кметь Ольги Гнатівни «Патогенетичне обґрунтування ефективності модуляторів ГАМК-ергічної та ренін-ангіотензинової систем при експериментальній нейродегенерації», є завершеною, самостійною науковою працею, яка містить нові науково-обґрунтовані результати, що мають суттєве теоретичне і практичне значення для медицини і нове рішення актуальної

наукової проблеми, яка полягає у визначенні ролі ГАМК-ергічної та ренін-ангіотензинової системи в механізмах розвитку нейродегенеративних процесів і обґрунтуванні використання нейропротективних ефектів модуляторів ГАМК-ергічної та інгібіторів ренін-ангіотензинової системи для відновлення нейронних зв'язків і отримання позитивної динаміки показників когнітивної здатності.

За актуальністю, рівнем методичного підходу, ступенем обґрунтованості та вірогідності положень і висновків, науковою новизною і практичною значущістю отриманих результатів, повнотою їх викладення в опублікованих працях, їх апробацією на конференціях, конгресах, вважаю, що дисертація Кметь Ольги Гнатівни повністю відповідає вимогам, передбаченим пунктами 7 та 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 1197 від 17 листопада 2021 р., а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

д. мед. н., професор, професор
кафедри загальної та клінічної
патофізіології імені Д.О. Альперна
Харківського національного
медичного університету



Олена ПАВЛОВА