

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Ткаченко Вікторії Андріївни "Окисна модифікація білків та шляхи її запобігання за умов експериментальної ішемії міокарда", поданої в спеціалізовану вчену раду К 35.051.14 при Львівському національному університеті імені Івана Франка на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

1.Актуальність обраної теми. У наш час частота смертності від серцево-судинних захворювань сягає понад 40% серед населення більшості розвинутих країн Європи. Слід зазначити, що в Україні цей показник один із найвищих у світі. Згідно даних статистики до 70 % смертей жителів нашої країни пов'язана з патологією органів системи кровообігу, при чому слід відмітити невпинне зростання частоти серцево-судинних захворювань, тоді як в розвинутих країнах ці показники проявляють тенденції до зменшення. На сьогодні жодних сумнівів не викликає провідне значення оксидативного стресу у формуванні патохімічних змін при ішемічній хворобі серця. Проте, не зважаючи на те, що останнім часом накопичено велику кількість доказів того, що за умов ішемії міокарда окрім оксидативного, розвивається карбонільний стрес, що призводить до незворотних змін внутрішньоклітинних білків, механізми його розвитку залишаються недостатньо з'ясованими та є актуальним напрямком сучасної науки.

Зважаючи на той факт, що ішемічна хвороба серця супроводжується підвищеним утворенням активних форм кисню, активно продовжується пошук кардіопротективних сполук, що володіють вираженими антиоксидантними властивостями спроможних запобігати окисній модифікації білків.

Враховуючи вищесказане вважаю, що дослідження, проведене Ткаченко В.А. дуже актуальне і має важливе значення для розкриття механізмів формування карбонільного стресу та окисної модифікації білків при ішемічній хворобі серця та розробки можливих шляхів корекції.

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

Дисертаційна робота виконана згідно планів наукових досліджень ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» і є фрагментом тем: «Посттрансляційні зміни (модифікації) білків за умов патологічних процесів» (номер держреєстрації 0114U001279) та держбюджетної теми «Визначення ефективності терапії та ризику ускладнень у хворих з артеріальною гіпертензією, різними формами ішемічної хвороби серця на основі оцінки посттрансляційних модифікацій білків» (номер держреєстрації 0114U001280).

3. Ступінь обґрунтованості основних положень і висновків сформульованих у дисертації.

Сформульовані Ткаченко В.А. основні наукові положення та висновки обґрунтовані достатньою кількістю експериментальних досліджень, які проведені на щурах лінії Вістар та підтверджуються всією сукупністю результатів досліджень, отриманих та обговорених із залученням вітчизняних та зарубіжних джерел. Отримані дані опрацьовані статистичними методами аналізу.

Перелічене вище дозволяє оцінити одержані результати наукового дослідження, основні наукові положення і висновки як обґрунтовані.

4. Достовірність основних наукових положень, висновків, проведених наукових досліджень та одержаних результатів.

Сформульовані Ткаченко В.А. основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань методів: біохімічних (визначення ступеня окисної модифікації білків, рівня флюоресціюючих кінцевих продуктів глікації, концентрації ТБК-активних продуктів, активності ензимів антиоксидантного захисту, матриксних металопротеїназ та трипсиноподібних ензимів, електрофоретичне визначення галектину-3 з подальшим імуноблотингом та імунофлуоресцентним аналізом), фізіологічних, гістологічних та методах статистичного аналізу.

Перелічене вище дозволяє оцінити одержані результати, основні наукові положення та висновки глибоких за змістом досліджень, проведених Ткаченко В.А. як достовірні.

Дослідження проводились відповідно етичних норм, встановлених Законом України № 3447-IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» з Міжнародних принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18 березня 1986 р.).

5. Новизна основних наукових положень, висновків, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів.

Автором показано доведено важливе значення карбонільно-оксидативного стресу у формуванні патохімічних змін у міокарді при ішемічній хворобі серця. Доведено, що за таких умов суттєво змінюється протеазно-інгібіторний баланс у крові та серцевому м'язі. При цьому зміна активності матриксних металопротеїназ, що може бути наслідком підвищеного глікозилювання білків внаслідок формування карбонільно-оксидативного стресу змінює функціональний статус матриксних металопротеїназ, що спостерігали як при адреналіновій, так і при пітуїтринізадринової моделі ушкодженням міокарда.

Дисертантом доведено позитивний коригуючий вплив антиоксидантних речовин (корвітину, аміногуанідину та 2-оксоглутарату), а також тетрациклінового антибіотика доксицикліну та антагоніста альдостерону еплеренону на формування карбонільно-оксидативного стресу в міокарді.

Автором вперше показано зниження кількості форм галектину-3 (AGE-R3), за винятком тетрамерної, під впливом антиоксидантів та доксицикліну. Зміни галектину-3 при ішемічній хворобі серця, призводять до втрати його властивостей скавендж-рецептора до кінцевих продуктів глікації. Таким чином, пряма чи непряма регуляція його функціонування використаними антиоксидантними сполуками може бути важливою для корекції впливу продуктів окисної та карбонільної модифікації білків.

6. Практичне значення одержаних результатів.

Матеріали проведених досліджень слугують підґрунтям для оцінки ступеня утворення продуктів окисної модифікації білків, що може бути використано в

клінічних лабораторіях, за результатами роботи отримано патент на корисну модель, відтворення якого дозволяє оцінювати рівень кінцевих продуктів глікації.

Отримані результати можуть у подальшому знайти застосування у практичній медицині для розробки додаткових маркерів у діагностиці та моніторингу серцево-судинних захворювань і їх корекції антиоксидантними препаратами, а також бути використаними у навчальному процесі при підготовці студентів біологів та медиків..

7. Повнота викладу основних наукових положень, висновків і опублікованих праць та в авторефераті.

Дисертант є автором 23 наукових праць за темою дисертаційної роботи, з яких 7 статей рекомендована ДАК України (1 з них належать до міжнародних наукометричної бази «Scopus»), 14 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій, 1 патент на корисну модель.

Наукові положення, висновки, які сформульовані в дисертації достатньо повно відображені в опублікованих роботах та авторефераті. Всі розділи автореферату повторюють матеріали дисертаційної роботи, де у лаконічній формі викладено основні положення, висновки та отримані результати. Автореферат дисертації оформлений згідно сучасних вимог ДАК України.

Матеріали дисертаційної роботи Ткаченко В.А. пройшли апробацію на наукових конференціях, з'їздах, конгресах, симпозіумах в Україні та за кордоном.

8. Структура дисертації.

Дисертація побудована у традиційному стилі, включає: анотацію, вступ, огляд літератури, розділу власних досліджень, обговорення результатів дослідження та їх узагальнення, висновків, списку літератури.

У "Вступі" переконливо обґрунтовується необхідність проведення даного дослідження, чітко визначено його мету і задачі, виділено наукову новизну і практичне значення роботи, апробацію та впровадження результатів дослідження.

В "Огляді літератури", який складається з 4 підрозділів, представлено глибокий системний аналіз літературних джерел останніх років відносно механізмів формування та наслідків окисної модифікації білків та можливих засобів її запобігання.

Розділ "Матеріали і методи дослідження" написано кваліфіковано. Детально викладено дизайн експериментів, обрано методики, що відповідають поставленим цілям та є сучасними. Слід відмітити, що в дисертаційній роботі було використано не тільки методи біохімії, але й проведено гістологічні та фізіологічні дослідження, що описано у розділі "Матеріали і методи дослідження".

У розділі 3 «Результати досліджень», що складається з чотирьох підрозділів автор чітко та послідовно описує результати, що стосувались двох моделей адреналінової ішемії міокарда та пітуїтрин-ізадринного ушкодження міокарда та при застосуванні антиоксидантів (корвітину та аміногуанідину), антибіотика доксоцикліну та антагоніста альдостерону еплеренону.

У розділі "Обговорення результатів дослідження та їх узагальнення" автор оцінює та зіставляє отримані дані із літературними. Завершується розділ схемою, в якій представлено концепцію автора щодо утворення продуктів окисної модифікації білків, їх вплив на внутрішньоклітинні процеси в кардіоміоцитах за умов ішемії, та показано можливі шляхи корекції.

Основні положення дисертаційної роботи відображені у 8-ми висновках, які логічно витікають з отриманих результатів, дають відповіді на питання, поставлені дослідником.

Основу даної роботи складають науково обґрунтована робоча концепція та унікальний фактичний матеріал, який має глибоку доказову базу.

9. Запитання до автора щодо змісту та оформлення дисертації та автореферата.

Оцінюючи дисертаційну роботу Ткаченко В.А. в цілому позитивно, необхідно відзначити деякі запитання, які виникли в процесі рецензування роботи:

1. За яким механізмом корвітин знижує рівень глюкози в крові, підвищений при моделюванні адреналін-індукованої моделі ушкодження міокарда? Чи існують дані про вплив цього антиоксиданта на секрецію інсуліну?
2. Серед розмаїття ензимів, що беруть участь у деградації позаклітинного матриксу, чому ви обрали лише матриксні металопротеїнази 2/9?

3. Чому для підтвердження кардіотоксичної дії було обрано визначення активності виключно аспартатамінотрансферази, проте не було проведено визначення таких важливих маркерів ушкодження міокарду, як тропонін, міоглобін, активність креатинкінази та лактатдегідрогенази?

4. За яким механізмом реалізується вірогідне зростання активності аспартатамінотрансферази при введенні 2-оксоглутарату на тлі пітуїтринізадринової ішемії міокарда і як можна трактувати ці зміни?

Висловлені зауваження не знижують позитивної оцінки дисертації в цілому, а також розроблених автором основних наукових положень, висновків та отриманих результатів проведених досліджень.

Висновок

Вважаю, що за актуальністю проблеми, яка вирішувалась, значним обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю одержаних результатів дана робота відповідає вимогам п. 9,10 та п. 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567, які висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор Ткаченко Вікторія Андріївна, заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент

Професор кафедри біологічної хімії

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького, д.б.н.



I.S. Фоменко

Вчений секретар

Львівського національного

медичного університету

імені Данила Галицького



С.П. Ягело