

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Бабаєвої Ганни Георгіївни "Перебіг експериментального некрозу міокарда при використанні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят", подану до спеціалізованої вченої ради Д64.242.01 при Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина

Актуальність теми. Дисертаційна робота Г.Г. Бабаєвої присвячена вирішенню цікавої та важливої задачі, яка залишається актуальною протягом багатьох років – проблемі лікування некрозу міокарда, який виникає як наслідок інфаркту. Наявні факти дозволяють припустити, що у клінічних проявах і патогенезі інфаркту міокарда відіграє роль не тільки сама ділянка некрозу серцевого м'яза, а й процеси, що розвиваються в збережених відділах серця, здатність до своєчасного і достатнього включення компенсаторно-приспосувальних механізмів. В даний час встановлено, що зрушення в обмінних процесах у серцевому м'язі при інфаркті поширюються далеко за межі зони порушеного коронарного кровотоку.

Лікування інфаркту та вторинна профілактика включає в себе комплекс заходів, в тому числі медикаментозну терапію, зокрема, застосування антиангінальних, а при необхідності також протиаритмічних засобів, серцевих глікозидів і т. ін. Але при тривалому застосуванні такого роду препаратів можливі побічні реакції відповідно до фармакологічних властивостей препаратів.

Сучасні засоби експериментальної і клінічної регенеративної медицини базуються як на застосуванні стовбурових клітин, так і інших біологічно активних препаратів, до яких належать екстракти тканин тваринного походження. Екстракти органів, які містять біологічно активні речовини, в основному пептидної природи, мають унікальну сукупність фізіологічно активних властивостей та практично не викликають побічних реакцій.

Вважається, що дія тканинних екстрактів, які містять регуляторні пептиди, заснована на принципі тканинспецифічності або органотканинної подібності – екстракт органа тварини прямо впливає на гомологічний орган або на стан органних культур. На відміну від органопрепаратів із нативних клітин, що містять високомолекулярні протеїни і фрагменти клітинних мембран, такі екстракти практично не викликають сенсibilізації і алергічних реакцій. В зв'язку з цим у даній роботі проведено дослідження впливу екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на перебіг експериментального некрозу міокарда у щурів.

Виходячи з вищесказаного, дисертація Ганни Георгіївни Бабаєвої, в якій

проведено експериментальне дослідження можливості позитивного впливу на перебіг некрозу міокарда, є актуальною.

Зв'язок дисертаційної роботи з державними науковими програмами. Дисертація виконана у відділі експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України в рамках науково-дослідних тем Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України: "Одержання екстрактів з кріоконсервованого ксеногенного матеріалу, їх склад та біологічна дія" (№ держреєстрації 0107U000539) та "Вплив низьких температур та екстрактів серця і селезінки на процеси некротизації і регенерації міокарду, судин та хряща" (№ держреєстрації 0112U003133).

Структура, обсяг і зміст дисертації. Дисертація побудована відповідно з вимогами ДАК і складається зі вступу, огляду літератури, розділів, в яких подаються відомості про матеріал і методи дослідження, результатів власних досліджень, їх обговорення, аналізу і узагальнення результатів та висновків. Список використаної в роботі літератури становить 282 найменування. Робота викладена на 112 сторінках друкованого тексту, містить 29 таблиць та 15 рисунків.

Вступ містить усі необхідні підрозділи і не викликає зауважень. Цей розділ написано стисло, гарною мовою, чітко сформульовані мета і задачі роботи, об'єкт та предмет дослідження, наукова новизна і практичне значення одержаних результатів та особистий внесок здобувача в роботи, які опубліковано в співавторстві.

Огляд літератури викладений на 20 сторінках і складається з 5 підрозділів, в яких проаналізовано традиційні методи лікування інфаркту міокарда, поняття клітинної терапії і стимуляція процесів регенерації в серці, використання пептидів в кардіології, в тому числі регуляторних, а також біологічна дія екстрактів кріоконсервованих фрагментів органів.

Розділ 2 "Матеріали та методи дослідження" написаний на 7 сторінках, приведені основні методи дослідження методичні прийоми та обладнання кріобіологічні, біохімічні, гістологічний, електрокардіографічний, спектрофотометричний, спектрофлуориметричний, використання флуоресцентних зондів, планіметричний метод, та статистична обробка отриманих результатів. Доцільно було б спочатку дати опис об'єкта дослідження та розподіл його згідно застосованих методів та відтворених експериментів. Дати обґрунтування застосованих методів та їх переваги в цьому дослідженні. Вказати які статистичні показники вивчались, та як вимірювались.

Розділ 3 "Результати власних досліджень" повинен мати свою назву, а не просто результати власних досліджень. В цьому розділі показані визначення

впливу часу кріодеструкції на розвиток некрозу міокарда та ремодуляцію серця. Досліджено також вплив уведення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на морфометричні показники кріонекрозу міокарда, варіабельність серцевого ритму та на активність маркерних ферментів, лейкоцитарну формулу крові у щурів з некрозом міокарда. Досліджено вплив уведення екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят на інтенсивність перекисного окислення ліпідів, кількість молекул середньої маси та навантаженість альбуміну лігандами в сироватці крові.

Отримані дані свідчать, що при використанні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят у щурів з експериментальним некрозом міокарда зменшується зона некрозу серцевого м'яза, вираженість цитолізу та інтенсивність перекисного окислення ліпідів, зменшується навантаженість альбуміну сироватки крові лігандами, нормалізуються електрофізіологічні показники серця в більш ранні строки, ніж у тварин із нелікованим некрозом міокарда. Автором створена модель некрозу міокарда з відтвореною зоною ураження. Встановлено, що при цьому ремодельовання міокарда проходить по класичному шляху від асептичного запалення до формування сполучно-тканинного рубця. Спектральні параметри варіабельності серцевого ритму залежать від тривалості кріовпливу на міокард.

У тварин з некрозом міокарда, яким вводили екстракт серця поросят, в процесі ремодельовання серця відбувається збільшення показника потужності спектра нейрогуморальної регуляції і відновлення балансу вкладів симпатичного і парасимпатичних відділів вегетативної нервової системи більш швидкими темпами, ніж при нелікованому некрозі міокарда або при введенні Неотону. При цьому уведення екстракту зменшує зону некрозу.

Введення тваринам із кріонекрозом міокарда екстракту серця поросят або Неотону зменшує вираженість цитолізу, що проявляється в нормалізації активності аспартатамінотрансферази і лактатдегідрогенази в сироватці крові на 7 добу, а при некрозі міокарда – на 14. При цьому у дослідних тварин у більш ранні строки спостерігається нормалізація лейкоцитарної формули крові та знижується ендогенна інтоксикація організму порівняно з некрозом міокарда. У тварин з експериментальним некрозом, яким вводили екстракт кріоконсервованих фрагментів серця поросят, інтенсивність вільнорадикального окислення ліпідів і концентрація ТБКАП у сироватці крові зменшуються більш швидкими темпами порівняно з тваринами з некрозом міокарда та некрозом міокарда і введенням Неотону.

У тварин із некрозом міокарда збільшується кількість молекул середньої маси в сироватці крові та навантаженість альбуміну лігандами. Введення таким тваринам екстракту серця поросят сприяє нормалізації цих показників на 14

добу експерименту, тоді як у тварин із некрозом міокарда вони залишаються статистично достовірно вище норми. Відмінності в вигляді топограм синхронних спектрів флуоресценції сироватки крові відображають вираженість некротичного процесу, і такий підхід може знайти використання як експрес-метод оцінки перебігу патологічного процесу та ефективності терапії, також як і використання флуоресцентного зонда K-35 для визначення навантаженості альбуміну лігандами. В останній, заключній частині дисертації, дисертантка узагальнила всі отримані дані і зробила висновки.

Наряду з позитивною характеристикою треба відмітити, що, в таблицях показані статистичні показники не коректно, вони представлені цілими числами з вказанням похибки середньої, також цілим числом. При статистичній обробці ми отримуємо числа з десятими, сотими або тисячними. Це стосується табл. 3.7, 3.9, 3.11, 3.14 де приведені дані діаметра артеріол.

Треба відмітити також, що показник площі перерізу по центру кріонекроза при НМ та застосуванні на його тлі "Неотону" чи екстракту сердець суттєво відрізняється за рахунок зменшення параметра на всіх термінах дослідження. Крім того я не знайшов опису методів розрахунку (чи це було коло, еліпс) і чому вони зменшувались на 3,5 ніж контроль (і що собою представляв контроль). Також це стосується і площі ішемії.

Подача матеріалу за термінами дослідження затруднює її аналіз. В розділі Аналіз і узагальнення результатів дослідження доречно показувати графіки, що характеризують процес в цілому.

Аналіз вмісту пептидів подається тільки на 7 та 14 доби.

Аналіз інтенсивності флуоресценції зондом K-35 не дає повної характеристики змін, так як приведений не зовсім коректно і повністю.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій дисертації. Як вже сказано вище, об'єкт і предмет дослідження обрані вдало, мета і задачі дослідження сформульовані чітко. Планування дослідів, послідовність експериментальних досліджень і методи, що використані, цілком адекватні вирішенню поставлених задач.

Зроблені автором висновки логічно випливають з наведених результатів. Все це свідчить про обґрунтованість наукових положень, висунутих дисертантом, і про доцільність виконаної роботи.

Достовірність одержаних результатів, їх новизна і практичне значення. Достовірність результатів досягнута за рахунок використання сучасних методів кріомедицини, клітинної біології та біохімії. Всі дані проаналізовані із застосуванням адекватних методів статистичної обробки, що робить їх значимими й достовірними.

Наукова новизна результатів полягає в тому, що автор вперше

встановлено загальні закономірності розвитку некрозу та ремодуляції серця щурів залежно від часу кріовпливу на стінку лівого шлуночка. Встановлено, що варіація часу кріодеструкції серцевого м'яза дає можливість отримувати як субепікардіальний, так і трансмуральний НМ з високою повторюваністю зони ураження. При проведенні спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму встановлено, що екстракт серця сприяє більш ранньому відновленню співвідношення внеску симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи в потужність спектру порівняно з контролем та введенням Неотону. Також при цьому зменшується діаметр зони кріонекрозу, площа перерізу по центру зони кріонекрозу та площа перерізу зони ішемії, порівняно з тваринами, які не отримували лікування.

Показано, що введення екстракту сприяє зниженню лейкоцитарного індексу інтоксикації модифікованого. Встановлено, що у тварин з експериментальним некрозом міокарда, яким вводили екстракт, інтенсивність вільнорадикального окислення ліпідів і концентрація ТБКАП в сироватці крові зменшуються більш швидкими темпами порівняно з контролем. У тварин із некрозом міокарда збільшується кількість молекул середньої маси в сироватці крові та навантаженість альбуміна лігандами. Введення таким тваринам екстракту серця сприяє нормалізації цих показників в більш ранні строки порівняно з нелікованим некрозом. Вперше показано, що методи спектрофлуориметрії можуть знайти використання для оцінки вираженості і перебігу патологічного процесу при некрозі міокарда та ефективності терапії.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що Проведені дослідження показують високу біологічну активність і перспективність застосування екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят при лікуванні інфаркту міокарда. Одержані в роботі дані можуть бути використані при розробці імунобіологічних препаратів для лікування інфаркту міокарда.

Повнота викладу, отриманих результатів у публікаціях. Результати наведених в дисертації досліджень повністю відображені в 26 роботах: 7 статтях, опублікованих в фахових наукових виданнях, одному патенті та 18 тезах доповідей.

Автореферат та опубліковані статті повністю відображають зміст дисертації.

Зауваження і питання для обговорення. У даній роботі є окремі недоліки. Необхідно визначити такі:

1. В тексті дисертації зустрічаються граматичні та стилістичні помилки, на які вказано автору.

2. Викладення матеріалу і його аналіз доцільно проводити не за термінами дослідження, а давати характеристику явищ в динаміці (терміни дослідження).

3. Норма, як параметр для порівняння не зовсім коректний, так як в даному дослідженні необхідно вказувати метричні характеристики інтактних

щурів (вони відрізняються за видами, вагою, розмірами и т.і.).

4. Рисунки гістологічних препаратів показані в "мініатюрі" та ще й на об'єктиві x10. що не дає змогу характеризувати та ідентифікувати процеси які описані в міокарді (рис. 3.1, 3.2, 3.4, 3.7, 3.9, 3.11).

5. В роботі необхідно вказати Практичні рекомендації.

Запитання:

1. Що на Вашу думку (з результатів дослідження) є більш ефективним при НМ?

2. Чому не приведені дані про обмінну та ємнісну ланки ГМЦР, як складових оцінки метаболізму міокарда.?

Ці недоліки, що є в тексті дисертації, не мають, однак, принципового значення і не знижують високої наукової і практичної цінності роботи.

Загальний висновок полягає в тому, що за актуальністю, високим методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, їх вірогідністю, обґрунтованістю висновків і основних наукових положень, дисертаційна робота Г.Г. Бабаєвої "Перебіг експериментального некрозу міокарда при використанні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят", що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, повністю відповідає вимогам 11 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р.

Тому вважаю, що Ганна Георгіївна Бабаєва заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина.

Офіційний опонент:
 завідувач кафедри гістології,
 цитології та ембріології ВДНЗ України
 "Українська медична стоматологічна академія"
 доктор медичних наук, професор,
 лауреат Державної премії України
 в галузі науки і техніки

В.С.Семан

