

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Бібіченко Вікторії Олександрівни «Патогенетичне обґрунтування можливості використання глюкозамінілмурамід-дипептиду для профілактики хронізації запалення», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія

Актуальність теми дисертації.

Наукова проблема запалення є однією з ключових в сучасній патологічній фізіології та медицині взагалі. Типовий патологічний процес, яким є запалення з фундаментальної точки зору, є підґрунтям та одним із провідних патогенетичних ланцюгів більшості захворювань людини. Актуальність дослідження медичних аспектів запального синдрому, його патогенетичних механізмів та нових схем та методів патогенетично обґрунтованої фармакологічної корекції з роками не нівелюється, а набуває все більшої наукової та практичної значущості. Зважаючи на переважно працездатний вік значного контингенту хворих із запальними захворюванням, актуальність цієї проблеми набуває ще й соціального значення.

При обґрунтуванні теми та напрямку наукової роботи дисертант відзначає часті випадки хронізації запального процесу, що зустрічається в патогенезі багатьох запальних, деструктивних, ендокринних, нейродегенеративних, імунних та інших захворювань. При цьому вона відзначає недостатню дослідженість механізмів хронічного запального процесу.

В цьому аспекті слід зазначити провідне патогенетичне значення гіперактивації системи цитокінів та факторів росту при запальному процесі, що є характерним як для лабораторних досліджень, так і в клінічних обстеженнях. Цитокіни, які поділяються принаймні на про- та протизапальні, є медіаторами запалення. Відомо, що саме вони, локалізуючись в осередку запалення, детермінують перебіг запального процесу, а також визначають залучення до опосередкування запального процесу імунної, нервової, вегетативної та інших функціональних систем в організмі. Дисертантка при цьому логічно припустила наступну послідовність процесів за умов запалення: якщо цитокіни в разі

запалення локалізуються безпосередньо в його осередку, то перспективною є принципова можливість модифікації активності цитокінів шляхом стимуляції або пригнічення їх активності.

Автор дисертації обрала в якості сполуки, яка здатна стимулювати функціональну активність цитокінів та макрофагів, N-ацетилглюкозамініл-1-4-N-ацетилмурамоїл-L-аланіл-D-ізоглутамін, відомий як глюкозамінілмураміддипептид.

Відомо, що ця сполука достатньо ефективно застосовується в комплексній терапії імунодефіцитних станів при хронічних рецидивуючих інфекційно-запальних захворюваннях з субклінічним характером перебігу патологічного процесу. Але потенційної ефективності застосування глюкозамінілмураміддипептиду для профілактики хронічного запалення не було ще досліджено. Саме таке припущення було висловлено автором наукової роботи в якості її базису, що допомогло в послідуєчому при формулюванні мети дисертаційного дослідження, об'єкту, предмету та завдань дослідження.

Отже, багато питань щодо з'ясування патогенетичних механізмів хронічного запалення, особливостей медіаторної регуляції запалення, дослідження цитокінового профілю в осередку запалення недостатньо досліджені і потребують вдосконалення. Тому актуальним вважаю патогенетичне обґрунтування можливості використання окремих гемомодуляторів, які стимулюють синтез цитокінів, впливають на вміст їх в периферичній крові, для профілактики хронічного запалення. Визначення профілактичної протизапальної ефективності глюкозамінілмураміддипептиду, в особливості, за умов хронічного запалення, має велике перспективне значення, оскільки в разі акумуляції позитивних даних є всі підстави говорити про новий ланцюг патогенетично обґрунтованої фармакокорекції хронічного запального процесу та профілактики ускладнень за таких умов.

Таким чином, вважаю, що дисертаційна робота В.О. Бібіченко є актуальною та важливою для патологічної фізіології, клінічної патологічної фізіології, клінічної фармакології, терапії та низки споріднених клінічних дисциплін.

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

Дисертаційна робота є фрагментом науково–дослідних робіт кафедри патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України на тему «Міжклітинні взаємодії в патогенезі запалення: взаємодія еозинофілів і тканинних базофілів» (номер державної реєстрації 0109U001742) і «Патогенез ушкоджуючої дії на організм негативних екзогенних факторів у сучасних умовах» (номер державної реєстрації 0115U000991). Дисертант є співвиконавцем вказаних наукових тем.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в тому, що вперше за результатами спеціального комплексного дослідження було обґрунтовано патогенетичну доцільність використання глюкозамінілмураміддипептиду для профілактики хронічного запалення.

Автором наукової роботи виявлено, що за умов вторинного хронічного запалення на тлі застосування глюкозамінілмураміддипептида знижується інфільтрація запальної тканини гранулоцитами протягом усього 28-добового періоду дослідження. При цьому вперше визначено підсилення інфільтрації запальної тканини моноцитами й лімфоцитами протягом перших 14 діб запального процесу, що спричиняє більш ефективну елімінацію флогогену, а вираженість аналогічного процесу в більш пізній період (протягом 3 та 4 тижня) знижується, що свідчить про зменшення хронізації запалення.

Дисертанкою вперше показано, що застосування глюкозамінілмураміддипептиду спричиняє протизапальний ефект при хронічному запальному процесі за рахунок більшої активації гемопоезу і, таким чином, стимулюючи надходження лейкоцитів у кров і осередок запалення в початкові його терміни.

Дисертантом визначено, що на тлі застосування глюкозамінілмураміддипептиду активація моноцито- і лімфоцитопоезу в ранні терміни виражена в більшому ступені, а в подальші терміни її вираженість зменшується.

В дисертації вперше встановлено, що на тлі введення глюкозамінілмураміддипептиду різко змінюється продукція прозапальних (ФНП- α та ІЛ-2) та протизапальних (ІЛ-10) цитокінів, що висвітлює принципове пригнічення медіаторного прозапального забезпечення в осередку запалення під впливом

пептиду та є експериментальним підґрунтям доцільності тестування його клінічних ефектів за умов хронічного запального процесу.

Теоретичне значення результатів дослідження.

Дисертанткою поглиблені існуючі уявлення про медіаторне забезпечення хронічного запалення, про динаміку змін концентрації окремих про- та протизапальних цитокінів в осередку запального процесу.

Отримані результати свідчать про можливість і доцільність використання глюкозамінілмурамідпептиду при гострому запаленні для профілактики хронізації, а також для лікування хронічного запалення для меншення його подальшого прогресування, що має вадливий внесок для всіх галузей практичної медицини.

Вперше експериментально доведено факт пригнічення хронізації запалення під впливом застосування глюкозамінілмурамідпептиду за даними основного параметра запалення – реакції системи крові – на моделі карагінінового хронічного асептичного запалення.

Практичне значення результатів дослідження.

Практична значущість результатів дослідження полягає у поглибленні знань стосовно механізмів порушення експресії медіаторів в осередку запального процесу, а також перспектив фармакологічної модуляції активності цитокінів та/або макрофагів в осередку хронічного запального процесу задля отримання позитивного терапевтичного ефекту.

У практику роботи експериментальних лабораторій запроваджено спосіб нормалізації вмісту цитокінів в крові при вторинно-хронічному запаленні (патент України № 119338). Розроблений та запатентований оригінальний спосіб надає принципову можливість спричиняти протизапальну дію шляхом нормалізації вмісту цитокінів в осередку запалення – йдеться про зменшення функціональної активності прозапального ланцюга та активацію функціональної активності протизапального ланцюга цитокінової реакції. Відзначу, що автор з нової точки зору та з новою сукупністю результатів розглядає конкретний факт функціонування системно-антисистемної регуляції за умов хронічного

запального процесу, що є принципово новим та важливим для подальшого дослідження за експериментальних та клінічних умов.

Практична значимість отриманих результатів підтверджується впровадженнями основних положень дисертаційної роботи В.О. Бібіченко до навчального процесу на кафедрах патологічної фізіології Харківського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава), Національного фармацевтичного університету (м. Харків), а також на кафедрі фізіології та патофізіології з курсом медичної біології медичного інституту Сумського державного університету.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Обґрунтованість і достовірність положень, висновків та практичних рекомендацій дисертаційної роботи базується на результатах експериментальних досліджень, які були виконані на 132 щурах-самцях лінії WAG.

Застосовано було адекватну клінічному стану, традиційну та широко застосовану модель карагенінового запалення.

Проведений статистичний аналіз виділених дисертантом експериментальних груп щурів за основними показниками реакції системи крові засвідчує релевантність груп та можливість статистичної оцінки та співставлення отриманих результатів. В дисертаційній роботі використані сучасні загальноприйняті методи статистичної обробки отриманих результатів. До уваги дисертант приймав лише статистично відмінні розбіжності.

Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках друкованого тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів (загалом 12 підрозділів) власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (201 джерело, в тому числі 90 – кирилицею та 111 - латиницею) і додатків. Робота ілюстрована 11 таблицями і 36 рисунками.

Наукові положення, висновки і практичні рекомендації впливають із фактичного матеріалу, є обґрунтованими, які логічно завершують роботу, достовірні та мають теоретичне та практичне значення.

Відповідно до мети та завдань дисертаційної роботи опрацьовано її структуру, визначено об'єкт і предмет дослідження, комплекс патофізіологічних, морфологічних, біохімічних та статистичних методів.

Перший розділ дисертаційної роботи присвячений огляду наукової літератури про рол системи крові в патогенетичних механізмах запалення. Акцент робиться на важливості та значущості враховування функціонального стану системи крові за умов виникнення запального процесу в його осередку. Дисертантка відзначає важливість враховування медіаторної реакції при ініціації запалення, наводить наукові дані стосовно її вираженості за експериментальних та клінічних умов. В цьому розділі огляду літератури наводяться дані про сполуки/речовини, які ініціюють/прискорюють запалення або гальмують його вираженість, тобто спричиняють протизапальні ефекти.

В подальшому автор роботи розглядає патогенетичні механізми хронізації запалення з точки зору залучення до цієї патологічної реакції системи крові. Автор відзначає, що тривалий патологічний процес не завжди супроводжується явними ознаками локальної запальної реакції. З фундаментальної точки зору за умов, наприклад, формування імунного дефіциту виникає зовсім інший каскад патологічних реакцій в органах і системах організму, формується порочне коло і хронічне запалення стає типово патологічним процесом. Наводяться дані наукової літератури, які характеризують особливості хронічного запалення, а саме, триваліша нейтрофільна інфільтрація, відстрочення макрофагальної і фібробластичної реакцій, менш виражена фібробластична і більш виражена лімфоцитарна реакції, наявність повторної лімфоцитарної, макрофагальної і фібробластичної реакцій і т.і.

Огляд літератури завершується тим, що дисертантка визначає актуальною темою та напрямком проблеми профілактики формування хронічного запалення, маніфестація якого спричиняє виникнення численних захворювань людини., а також вказує на перспективність дослідження гематологічних маркерів хронізації запалення.

У Розділі 2 “Матеріали і методи дослідження” наведено особливості виконання експериментальних досліджень, відтворення моделі карагінено-індукованого хронічного асептичного запалення, процес рандомізації експериментальних тварин по групам, патофізіологічні, гематологічні, гістологічні, гістохімічні, цитологічні, цитохімічні методи дослідження, а також критерії статистичної оцінки отриманих результатів. Ретельно описані методи оцінки стану систему крові за умов обраної моделі асептичного запалення. Наведена методика статистичного аналізу отриманих результатів.

Перший розділ власних результатів (розділ 3.1) присвячений результатам морфологічного, гематологічного, цитологічного, а також із застосуванням інших методик дослідження особливостей функціонування системи крові за умов природнього перебігу вторинно хронічного карагіненового запалення. За результатами низки досліджень, які наведені у 6 підрозділах цієї частини наукової роботи впевнено доведено наявність морфологічних змін та гематологічних особливостей за умов карагіненової моделі вторинного запалення – йдеться принаймні про виражену лейкоцитарну інфільтрацію запальної тканини, плазматизацію лімфоцитів, що є віддзеркаленням активації гуморального і клітинного імунітету. Автор вказує також на формування прогресуючої фібробластичної реакції сполучної тканини.

Відзначено, що на периферії осередка запалення порівняно з його центром менше виражена інфільтрація нейтрофілами і еозинофілами, але суттєво більше – моноцитами і лімфоцитами. Плазматизація лімфоцитів виражена більше на периферії осередка запалення. Реакція клітин сполучної тканини також більш виражена на периферії вогнища запалення у зв'язку з тим, що репаративні явища починаються з периферії вогнища і йдуть у напрямку до центру за рахунок сполучнотканинних елементів.

На підставі цього дисертант роботи висновок про особливості морфологічного, гематологічного, гемопоетичного та цитокінового «забезпечення» осередку хронічного запалення, розділяючи особливості вказаних вище критеріїв по центру та по периферії такого осередка.

У другому розділі власних результатів (розділ 3.2) наведені фактичні дані дослідження особливостей перебігу хронічного запалення за умов застосування глюкозамінілмураміддипептиду. На початку викладення

результатів цієї частини дослідження автор наводить дані стосовно індиферентності самого пептиду при його введенні інтактним щурам, що в подальшому надає можливості аналізувати його ефективність за умов відтворюваної моделі хронічного асептичного запалення. У шести підрозділах цього розділу результатів власних досліджень авторкою впевнено доводиться ефекти зниження хронізації запалення при застосуванні глюкозамінілмураміддипептиду за рахунок більшої активації гемопоезу. За її поясненням, так відбувається надходження лейкоцитів у кров і осередок запалення в початкові терміни патологічного процесу. Значний масив фактивних результатів свідчить про активацію моноцито- та лімфоцитопоезу в ранні терміни запалення під впливом глюкозамінілмураміддипептиду, особливо в ранні терміни хронічного запалення. В подальші терміни перебігу патологічного процесу подібна реакція виражена в меншому ступені. Наприкінці цього розділу дисертантка наводить дані стосовно зменшення продукції пула прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-2) та збільшення виробки протизапального ІЛ-10 на тлі введення глюкозамінілмураміддипептиду порівняно з природним перебігом вторинного хронічного запалення.

В розділі №4 надано детальний аналіз та узагальнення отриманих результатів, які продемонстровані 17 рисунками. Дисертант аналізує досліджені гістологічні, морфологічні, гематологічні, цитологічні та інші маркери запалення, яке перебігає природно (в першій серії дослідів), а також на тлі застосування глюкозамінілмураміддипептиду (в другій серії дослідів).

Перш за все слід відмітити, що при вивченні клітинного складу центру осередка запалення спостерігається значний протизапальний ефект глюкозамінілмураміддипептиду за карагієнового запалення, який відзначається з боку різних складових клітинно-тканинної реакції вогнища запалення: лейкоцитарної інфільтрації, проліферації сполучнотканинних елементів. Автор відзначає, що використання глюкозамінілмураміддипептиду впливає на вміст різних клітинних елементів, характерних для запальної реакції, а зміни клітинного складу осередку карагієнового запалення на його периферії ідентичні з такими в центрі, однак менше виражені.

При аналізі гематологічних корелятив перебігу хронічного запалення за дослідних умов автор відзначає, що при запаленні на тлі застосування

глюкозамінілмураміддипептиду порівняно з природнім перебігом процесу у ранні терміни запалення в осередок емігрує більша кількість лейкоцитів порівняно з більш віддаленими термінами, так як їх виходить менша кількість. В ранні терміни хронічного запалення відбувається більше вимивання клітин з кісткового мозку у кров, за таких умов суттєво стимулюється гемопоез, а для більш пізніх термінів періоду хронізації запалення характерною є менша активація гемопоезу.

Автором ретельно прослідковуються гематологічні зміни, а також концентрація ФНП- α , ІЛ-2 та ІЛ-10 в осередку запалення за умов природного перебігу відтворюваного патологічного процесу, а також й за умов застосування глюकोзамінілмураміддипептиду.

Вважаю, що дисертаційна робота описана методично вірно, враховуючи чинні вимоги ДАК МОН України.

Повнота викладу результатів дисертаційного дослідження в опублікованих працях.

Результати дисертаційної роботи широко апробовані на 10 наукових конференціях та пленумах за фахом роботи. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 15 наукових праць, зокрема, 6 статей у фахових наукових видання, рекомендованих ДАК МОН України (з їх числа - 2 статті у іноземному виданні, яке внесено до наукометричних баз) та 7 тез доповідей у матеріалах наукових форумів та конференцій за фахом дисертації. Отримано 1 патент України та 1 акт галузевого нововведення.

Недоліки автореферату щодо його змісту та оформлення.

В дисертаційній роботі зустрічаються окремі стилістичні помилки та повторення, які не є суттєвими на не впливають на загальну позитивну оцінку всієї роботи в цілому.

В ході рецензування дисертаційної роботи виникли наступні питання.

1. Чим Ви можете пояснити тривалий (протягом 28 діб) вплив застосованого Вами пептиду за умов карагенінового запалення, оскільки така велика за розмірами білкова молекула швидко підлягає деструкції в крові?

2. Чи прослідковували Ви можливість дослідження залежного від дози ефекту глюкозамінілмураміддипептиду при хронічному запаленні?

3. Як Ви поясните зменшення експресії цитокінів при застосуванні глюкозамінілмураміддипептиду за модельних умов хронічного запалення? Питання викликане тим, що незважаючи на хронічний та млявий характер запальний процес в організмі ще присутній, а це має бути зкорельовано з цитокіновим «супроводом».

4. Які Ви бачите перспективи клінічного застосування глюкозамінілмураміддипептиду у профілактиці ускладнень в різного контингенту пацієнтів із вторинним (хронічним) запаленням?

Рекомендації щодо використання результатів дослідження у практиці.

Матеріали дисертаційної роботи В.О. Бібіченко можуть бути рекомендовані для подальшого поглибленого вивчення у навчальній діяльності вищих медичних закладів при викладенні розділів загальної патофізіології, особливо, патофізіології запалення та патофізіології системи крові.

Клінічна спрямованість висновків дисертаційної роботи в частині розробки заходів профілактики хронізації вторинного запального процесу дозволяє рекомендувати отримані сукупні результати до практичного використання в терапевтичних закладах та інших відділеннях обласних та міських лікарень, де лікування проходять пацієнти з хронічними запальними процесами.

10. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Бібіченко Вікторії Олександрівни на тему «Патогенетичне обґрунтування можливості використання глюкозамінілмураміддипептиду для профілактики хронізації запалення» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія виконана на сучасному науковому та методичному рівні при науковому керівництві доктора медичних наук професора Шевченка Олександра Миколайовича, є завершеною, кваліфікованою, самостійною науковою працею. Отримані нові, обґрунтовані, достовірні результати, сукупність яких містить нове рішення актуальної проблеми сучасної патологічної фізіології.

За актуальністю теми, обсягом досліджень, викладеним матеріалом, обґрунтованістю висновків, науковою новизною і практичним значенням дисертація повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 (зі змінами внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів №656 від 19.08.2015 р. і №1159 від 30.12.2015 р.) стосовно дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор - Бібіченко Вікторія Олександрівна - заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького
Одеського національного медичного університету
МОЗ України
доктор медичних наук, професор

Вастьянов Р.С.

Підпис професора Вастьянова Р.С.
засвідчую: Вчений секретар Одеського
національного медичного університету
доктор медичних наук, професор



Аппельханс О.Л.