

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук професора Луцюка Миколи Борисовича на дисертаційну роботу **ЯКОВЛЕВА БОРИСА ФЕДОРОВИЧА** на тему: «**БІОХІМІЧНІ ЧИННИКИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ У ОСІБ ПОХИЛОГО ВІКУ; КОРЕКЦІЯ ПЕНТОКСИФІЛІНОМ**» поданої до спеціалізованої вченої ради К 05.600.05 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.32 - медична біохімія

Робота виконана у центральній науково-дослідній лабораторії Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України. Науковий керівник - доктор медичних наук, старший науковий співробітник ІГРУНОВА Ксенія Миколаївна (Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України, керівник центральної науково-дослідної лабораторії).

Загальні дані про дисертацію та автореферат. Дисертація написана українською мовою на 151 сторінці друкованого тексту і має класичну структуру: вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних літературних джерел, що включає 231 найменування (в основному за останні 5 років), з них 83 – кирилицею. Робота ілюстрована 28 рисунками і 30 таблицями. За темою дисертації опубліковано 16 наукових праць - 2 монографії та 11 статей, які повністю відображають результати досліджень дисертанта Яковлева Б.Ф. Робота широко обговорена на наукових форумах. Автореферат надруковано на 20 сторінках, зауважень до автореферату немає.

Актуальність обраної теми дисертації

Тема дисертації надзвичайно актуальна, оскільки торкається серцево-судинної патології, в даному випадку - у осіб похилого віку. В Україні, як і у

всьому світі, спостерігається неблагополучна демографічна ситуація. Так, згідно даних ООН, населення світу у віці 60 років і старше налічувало у 2000 році 600 мільйонів чоловік, порівняно з 205 млн. у 1950 році – збільшення за 50 років майже у три рази. По прогнозам, до 2050 року чисельність таких людей складе більше 2 мільярдів чоловік. Незважаючи на відкриття основних етіопатогенетичних аспектів, досягнень в діагностиці та хірургічному лікуванні серцевосудинних захворювань (ССЗ), ці хвороби залишаються основними причинами смертності людей похилого віку. Тому подальше вивчення патогенетичних аспектів та пошук терапевтичних засобів лікування ССЗ та ішемічної хвороби серця (ІХС) у осіб похилого віку є актуальною медичною проблемою.

Автор ретельно проаналізував особливості терапевтичної дії основних кардіотропних препаратів, та притаманні їм недоліки – обмеження, проблематичність та навіть протипоказання до застосування і показав необхідність подальшого вдосконалення технологій консервативного лікування ССЗ у осіб похилого віку. Цій проблемі і присвячена робота дисертанта.

Наведена також розвернута характеристика пентоксифіліну, історія його відкриття та показники для застосування. Важливо, що результати останніх досліджень вказують на нові властивості препарату та доцільність застосування в комплексній терапії ССЗ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами, планами

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт центральної науково-дослідної лабораторії Національної медичної академії післядипломної освіти (НМАПО) імені П.Л. Шупика МОЗ України та згідно бюджетної програми КБКВ 2301020 на замовлення МОЗ України «Роль генетичних детермінант та імунних механізмів у розвитку ендотоксикозу як базисного стану формування метаболічних розладів з метою розробки засобів корекції». Дисертант Б.Ф. Яковлева є співвиконавцем цієї теми.

Новизна дослідження та отриманих результатів

Вперше показано, що у осіб похилого віку з ІХС зміна біохімічних показників, порушення ангіогенезу, дисбаланс в фізіологічних процесах достовірно корелюють із поглибленням мікроциркуляторних порушень та систолічною дисфункцією лівого шлуночка. Виявлено, що у цих осіб на відміну від практично здорових людей похилого віку значно зростає спонтанний та індукований апоптоз, що свідчить з одного боку про виснаження внутрішніх резервів клітин, з іншого – асоціюється з поглибленням ендотеліальної дисфункції та зменшенням фракції викиду лівого шлуночка.

На основі лінійного регресійного аналізу автор встановив предиктори розвитку мікроциркуляторних порушень та систолічної дисфункції лівого шлуночка у осіб похилого віку з ІХС, а саме зростання рівнів VEGF та TNF α в сироватці крові та показника спонтанного апоптозу.

Ступінь обґрунтованості наукових досліджень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації, їх достовірність

Дисертаційна робота Б.Ф. Яковлева є закінченим науковим дослідженням, виконана на сучасному методичному рівні на достатньому клінічному, матеріалі. Наукові положення чітко сформульовані та підтверджені цифровими даними. Кількість обстежених (всього 125 людей похилого віку) пацієнтів загалом і в окремих групах є цілком достатньою для проведення статистичних обчислень, вирішення поставлених завдань та аргументації висновків. Для виконання роботи автором вибрані надійні методологічні підходи, використано сучасні, високоінформативні методи досліджень, які достатні для досягнення мети роботи та вирішення поставлених задач. Результати досліджень проаналізовані з урахуванням сучасних літературних джерел на високому науковому рівні. Наукові положення дисертації, висновки та рекомендації є логічним наслідком власних досліджень і обґрунтовані достатнім їх об'ємом. Так, біохімічні та інструментальні методи обстеження здійснені на групі хворих (65 осіб), які

знаходились на стаціонарному лікуванні у відділенні кардіології ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМНУ» з діагнозом ішемічна хвороба серця (ІХС): стабільна стенокардія напруження II-III ф.к., СН I зі збереженням систолічної функції лівого шлуночка та 29 осіб з ІХС, що знаходились на обстеженні в інституті кардіології.

Достовірність результатів дослідження підтверджена тим, що одержаний масив цифрових даних був обрахований сучасними статистичними методами, що засвідчує обґрунтованість та вірогідність отриманих результатів. Відповідні дані представлені у 30 таблицях, проілюстровані на 28 рисунках і проаналізовані у текстовій частині дисертації.

За результатами досліджень автором сформульовані та обґрунтовані висновки, які за змістом повністю відповідають меті роботи, поставленим завданням і свідчать про їх повну реалізацію. Сформульовані також конкретні та обґрунтовані практичні рекомендації щодо можливості корекції пентоксифіліном мікроциркуляторних порушень у осіб похилого віку, хворих на ІХС.

Вищенаведене дозволяє оцінити одержані результати, їх аналіз та сформульовані основні наукові положення і висновки як достовірні й такі, що не викликають сумнівів.

Теоретичне, практичне значення результатів дослідження

Теоретичне значення роботи полягає в уточненні автором патогенетичних механізмів виникнення ІХС у осіб похилого віку та їх залежність від кількісних показників функціонального стану ендотелію. Отримані дані відкривають також шлях для вивчення зв'язку між фармакологічною дією та хімічною структурою пентоксифіліну.

Практичне значення одержаних результатів значне. Достатньо вказати, що отримані автором та науковим керівником дані впроваджені в роботу терапевтичного та кардіологічного відділення такої поважної установи, як ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМНУ».

Результати дослідження Б. Ф. Яковлева впроваджено в наукову роботу та навчальний процес Національної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”, ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”, ДЗ “Дніпропетровська медична академія”.

Короткий аналіз змісту кожного розділу дисертації

ВСТУП

Мстить всі необхідні підрозділи: актуальність теми; зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами; мета дослідження; завдання дослідження; об'єкт дослідження; предмет дослідження; методи дослідження; наукова новизна одержаних результатів; практичне значення одержаних результатів; особистий внесок здобувача; апробація результатів дисертації; публікації; обсяг та структура дисертації. Зауважень до змісту цих підрозділів немає.

РОЗДІЛ 1. ФАКТОРИ РИЗИКУ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНИХ ПОРУШЕНЬ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Розділ 1 складається з трьох підрозділів.

1.1. Епідеміологія ішемічної хвороби серця у пацієнтів похилого віку

Тут наведено демографічні показники в світі та в Україні, а також захворюваність на ССЗ у світі, в Україні та окремих регіонах України.

1.2. Фактори ризику мікроциркуляторних порушень у хворих на ішемічну хворобу серця

Наведені та проаналізовані наступні біохімічні та патофізіологічні механізми ІХС – ендотеліальна дисфункція, оксидативний стрес, ендотоксемія, дисліпідемія, запалення, гемостазіологічні порушення, апоптоз. Особлива увага приділена ендотеліальній дисфункції, з якою пов'язані не тільки ІХС, але і ряд інших хвороб та станів. На думку автора, особливе значення для ІХС має дисбаланс між релаксуючими і

констрикторними факторами, анти- та прокоагулянтними медіаторами, між факторами росту та їх інгібіторами. Привертає увагу біохіміків таблиця 1.1. де наведено перелік цих біохімічних факторів В тексті наведено механізми дії всіх цих факторів. Серед багатьох причин розвитку ендотеліальної дисфункції автор наводить і гіпергомоцистеїнемію – синдром, що вивчається на нашій кафедрі, приємно, що автор посилається на праці Н.В.Заїчко, А.В. Мельника.

В огляді приділена значна увага патогенетичній дії ендотоксемії, викликаній ендотоксинами – ліпополісахаридами мікробного походження. Оскільки в роботі визначаються рівні молекул середньої маси, то цим речовинам мабуть доцільно було приділити більше уваги.

1.3. Сучасні погляди на корекцію мікроциркуляторних порушень

Дисертант наводить такі способи корекції: раціоналізація способу життя (майже повністю співпадає з профілактикою гіпергомоцистеїнемії), хірургічні втручання та терапевтичні методи лікування. Тут автор детально обґрунтовує можливість застосування пентоксифіліну в комплексній терапії ІХС. З огляду на біохімічний напрямок роботи доцільно було навести дані про хімічну структуру пентоксифіліну, фармакінетику, метаболіти та їх фармакологічні властивості.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Наведена детальна клінічна характеристика осіб, що підлягали обстеженню. Інструментальні методи дослідження - ВЕМ, Ехо-КГ, холтерівське моніторування ЕКГ. Дослідження мікроциркуляції та функціонального стану ендотелію судин проводили методом лазерної доплерівської флоуметрії на двоканальному лазерному доплерівському флоуметрі «Лакк-2» (РФ). Рівень апоптозу мононуклеарів крові визначали на проточному цитометрі PAS (Partec, Німеччина). Реологічні властивості крові оцінювали за допомогою ротаційного віскозиметра АКР-2 (Росія).

Біохімічні методи дослідження. В крові (сироватці, плазмі) відомими та апробованими (тобто надійними методами) визначили рівень молекул

середньої маси та індекс їх розподілу, вміст малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, активність каталази, ліпідний профіль сироватки крові - за вмістом ліпопротеїдів та загального холестеролу та його фракцій. Імунноферментним методом визначали вміст фактору росту судинного ендотелію людини (VEGF), фактору некрозу пухлини-альфа (TNF α), інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 β).

Система зсідання крові. Визначали: вміст фібриногену [Беліцер В. О. та ін., 1997], активність фактору Вілебранда імуноферментним методом, антитромбіну III та протеїну C, фібринолізу, агрегаційну активність тромбоцитів.

Методи статистичної обробки цифрового матеріалу. Статистичний аналіз матеріалу проводився за допомогою стандартних методів із застосуванням пакету прикладних програм «MS Excel XP» та «Statistica SPSS 10.0 for Windows». Оцінювали середнє значення, стандартні помилки, достовірність відмінностей. Для оцінки міжгрупової різниці застосовували параметричний критерій Ст'юдента, при визначенні зв'язків між показниками – кореляційний аналіз по Пірсону. метод множинного лінійного регресійного аналізу. Ризик формування систолічної дисфункції лівого шлуночка та мікроциркуляторних порушень у хворих на ІХС оцінювали за показником відносного ризику (*odds ratio* – OR) з розрахунком 95% довірчого інтервалу (ДІ), Борис Федорович застосовував також ROC-аналіз та метод персентилів.

Всі використані дисертантом методи дослідження в їх сукупності дозволили об'єктивно розкрити біохімічні та патофізіологічні чинники формування мікроциркуляторних порушень та систолічної дисфункції лівого шлуночка у хворих на ІХС, оцінити діагностичну вагомість кожного з методів, а також запропонувати нову ефективну технологію комплексного лікування хворих похилого віку на ІХС з застосуванням пентоксифіліну.

РОЗДІЛ 3. РОЛЬ ЕНДОТОКСИКОЗУ, ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ, ЗАПАЛЕННЯ ТА АСОЦІОВАНИХ З НИМИ ЗМІН У РОЗВИТКУ

ПОРУШЕНЬ СТАНУ СЕРЦЯ І СУДИН У ОСІБ ПОХИЛОГО ВІКУ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

В підрозділі 3.1 наведені результати визначення показників ендотоксикозу, запалення, ангіогенезу, оксидативного стресу та дисліпідемії у осіб похилого віку з ішемічною хворобою серця залежно від функціонального стану ендотелію та фракції викиду лівого шлуночка; *в підрозділі 3.2* стан систем гемостазу та апоптозу у осіб похилого віку з ішемічною хворобою серця залежно від функціонального стану ендотелію та фракції викиду лівого шлуночка; *в підрозділі 3.3.* – розрахунки кореляційних зв'язків між біохімічними показниками крові та параметрами функціонального стану ендотелію й фракцією викиду лівого шлуночка у осіб похилого віку з ішемічною хворобою серця.

Кореляційний аналіз надав вагомі докази того, що важливими маркерами формування мікроциркуляторних порушень та скоротливої дисфункції лівого шлуночка у осіб похилого віку з ІХС є наступні: зростання в крові вмісту прозапальних цитокінів TNF- α , VEGF та IL-1 β , активності фактору Вілебранда, зменшення рівня ЛПВЩ, а також збільшення показників спонтанної агрегації тромбоцитів та спонтанного апоптозу мононуклеарів крові.

РОЗДІЛ 4. ПРОГНОЗУВАННЯ ПОРУШЕНЬ СТАНУ СЕРЦЯ ТА СУДИН У ОСІБ ПОХИЛОГО ВІКУ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Весь 4-ий розділ присвячено статистичним розрахункам, що рідко зустрічається в дисертаціях медичного профілю. Результати статистичного дослідження показали, що з метою раннього виявлення осіб з високим ризиком мікроциркуляторних порушень та систолічної дисфункції лівого шлуночка серед пацієнтів на ІХС до лабораторно-діагностичного комплексу доцільно включити визначення рівнів TNF- α , VEGF, показника спонтанного апоптозу та активності фактору Вілебранда. Важливо, що поєднане підвищення вмісту в сироватці крові VEGF вище 605 пг/мл та TNF- α більше 7,53 пг/мл є найбільш несприятливою комбінацією метаболічних чинників і

збільшує ризик розвитку мікроциркуляторних порушень та систолічної дисфункції лівого шлуночка у осіб похилого віку з ІХС приблизно в 6 разів.

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ ТЕРАПІЇ З ВКЛЮЧЕННЯМ ПЕНТОКСИФІЛІНУ НА БІОХІМІЧНІ ЧИННИКИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНИХ ПОРУШЕНЬ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СЕРЦЕВОСУДИННОЇ СИСТЕМИ У ОСІБ ПОХИЛОГО ВІКУ З ІШЕМІЧНОЮ ХВОРОБОЮ СЕРЦЯ

Проведено динамічне спостереження за 72 пацієнтами з ІХС, які були розподілені на дві репрезентативні групи – основну та групу порівняння. Усі хворі отримували стандартну терапію (перераховано яку саме), Хворі групи порівняння (n=28) отримували лише базисну терапію. Основну групу склали пацієнти (n=44), яким до базисної терапії *додатково включали препарат «Латрен», діючою речовиною в якому є пентоксифілін* (підрозділи 5.1,- 5.3.).

Показано, що додаткове застосування препарату пентоксифіліну ефективно покращує процес мікроциркуляції в мілких судинах (виявляє ендотеліотропну дію), а також попереджує розвиток систолічної дисфункції лівого шлуночка (виявляє кардіотропну дію) у хворих похилого віку з ІХС.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Автор провів дуже цікавий за змістом та отриманими результатами аналіз інструментальних, біохімічних та статистичних даних. Так, кореляційний аналіз надав вагомі докази того, що важливими маркерами формування мікроциркуляторних порушень та скоротливої дисфункції лівого шлуночка у осіб похилого віку з ІХС є наступні: зростання в крові вмісту прозапальних цитокінів TNF- α , VEGF та IL-1 β , активності фактору Вілебранда, зменшення рівня ЛПВЩ, а також збільшення показників спонтанної агрегації тромбоцитів та спонтанного апоптозу мононуклеарів крові. Метод множинного лінійного регресійного аналізу, дозволив знайти найбільш вагомі відхилення, лабораторне виявлення яких в принципі може

бути використане для прогнозування розвитку ІХС у кожного конкретного пацієнта похилого віку.

Доведено також, що ендотеліо- та кардіотропні ефекти пентоксифіліну ймовірно обумовлені його здатністю: 1) зменшувати ендотоксикоз, прояви системного запалення та кардіоваскулярного ремоделювання; 2) стримувати порушення ангіогенезу та розвиток ендотеліальної дисфункції; 3) пригнічувати активність перекисного окиснення ліпідів; 4) зменшувати спонтанну та індуковану агрегацію тромбоцитів; 5) відновлювати баланс в системах зсідання, протизсідання крові та фібринолізу; 6) покращувати реологічні властивості крові; 7) пригнічувати спонтанний та індукований дексаметазоном апоптоз мононуклеарів крові.

В кінці розділу автор навів просту і переконливу схему (рис. 6.1) – «Біохімічні механізми розвитку мікроциркуляторних порушень та систолічної дисфункції лівого шлуночка у хворих похилого віку на ІХС, а також біохімічні мішені ендотеліотропної та кардіопротективної дій пентоксифіліну».

Зауваження щодо змісту дисертації та автореферату

Принципових зауважень до змісту роботи, дисертації та автореферату немає. Відмічена незначна кількість дрібних помилок та русизмів (наприклад, замість «оскільки» іноді написано «так як»).

ПИТАННЯ ДО ДИСЕРТАНТА

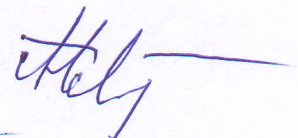
1. Ви стверджуєте (стор. 9), що за ІХС у пацієнтів похилого віку зростає апоптоз мононуклеарів, «що є важливим доказом зменшення функціональної активності та виснаження внутрішніх резервів клітин крові». Розшифруйте, про які резерви клітин йдеться?

2. Чи є в літературі дані щодо зв'язків певних структур в молекулі пентоксифіліну та його метаболітів з фармакологічною активністю?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Яковлева Бориса Федороича «БІОХІМІЧНІ ЧИННИКИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ІШЕМІЧНІЙ ХВОРОБІ СЕРЦЯ У ОСІБ ПОХИЛОГО ВІКУ; КОРЕКЦІЯ ПЕНТОКСИФІЛІНОМ», виконана у центральній науково-дослідній лабораторії Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України є завершеною науково-дослідною працею, присвяченою актуальній проблемі сучасної біохімії та медицини. Великий обсяг виконаних досліджень, використання сучасних адекватних поставленим задачам методів дослідження, результати отриманих результатів дозволили автору в сукупності розв'язати наукове завдання щодо зв'язків між біохімічними процесами, станом ендотелію судин та функцією лівого шлуночка серця у осіб похилого віку з ішемічною хворобою серця. Виявлено позитивну лікувальну дію на цих хворих препарату пентоксифіліну. За теоретичним та практичним значенням, науковою новизною результатів, об'єктивністю та обґрунтованістю висновків, впровадженням отриманих даних в практику та кількістю публікацій у друкованих виданнях - дисертація відповідає встановленим вимогам, а Яковлев Борис Федорович згідно п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 р. (зі змінами внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р. та № 1159 від 30.12.2015 р.) заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.32 – медична біохімія.

Професор кафедри біологічної та
загальної хімії Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професор



М.Б.ЛУЦЮК



Підпис Луцького М.Б.
Г.М.М.С. відділу кадрів
Вінницького національного
медичного університету
ім. М. І. Пирогова
« 10 06 2016 р. »

Відрук надіслано до
скарги 10.06.16.
Всесвітній секретар скарги

О.А. Назарчук