

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Повха Вячеслава Леонідовича “Роль модуляторів NMDA-рецепторів в механізмах нейроретинопротекції за ішемічного і травматичного ураження зорового аналізатора” представлену на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за фахом 14.01.32 – медична біохімія

### **Актуальність теми**

Патологія сітківки ока та зорового нерву тривалий час продовжує займати одну з провідних позицій серед причин втрати зору. Значна розповсюдженість ішемічних і травматичних ушкоджень зорового аналізатора перш за все потребує розшифровки молекулярних механізмів декструкції сітківки.

Проведені в останні роки дослідження свідчать про можливу реалізацію означених патологічних змін через глутаматну ексайтотоксичність, а саме гіперактивацію NMDA-рецепторів, що може призводити до апоптозу і некрозу нейронів.

Відомо також, гіперактивація NMDA-рецепторів ініціює основні реакції оксидативно-нітрозативного стресу і може бути тригером запальних процесів зорового аналізатора за умов ішемічного і травматичного його пошкодження. Механізми розвитку останніх пов'язані також із стресом ендоплазматичного ретикулуму відповідних клітин зорового аналізатора. Проте, що стосується регуляції активності NMDA-рецепторів в період регенерації зорового нерва в тому числі за допомогою різних хімічних і фармакологічних агентів можна відзначити, що ці аспекти вкрай недостатньо досліджені.

Таким чином, на думку опонента, напрямок рецензованого дослідження є актуальним і висвітлює реальні перспективи розуміння молекулярних механізмів нейроретинодеструкції при різних шляхах

ушкодження зорового аналізатора, її модуляції і сприятиме пошуку і розробці ефективних засобів фармакологічної корекції. Поставлена автором мета і завдання носять фундаментальний характер, відрізняються застосуванням сучасних біологічних, функціональних, фармакологічних і статистичних методів дослідження.

### **Наукова новизна дослідження**

Дисертантом отримані наукові результати, які відрізняються світовою новизною та забезпечують вирішення важливого завдання біохімії – визначення ролі модуляторів хімічного походження в механізмах нейроретинопротекції за ураження зорового аналізатора ішемічного і травматичного генезу.

Вперше встановлено, що ішемічне і травматичне ушкодження зорового аналізатора і пов'язане з ним збільшення активності NSE і рівня S100 в сироватці крові асоціюється з формуванням несприятливого метаболічного патерну, посиленням цитометричних ознак апоптозу, а також проліферативної активності нейроглії в сітківці ока в різні етапи перебігу досліджуваного патологічного процесу.

Доведено, що нейроретинопротекторний ефект інгібіторів NMDA-рецепторів реалізується не лише через безпосередній вплив на відповідні рецепторні утворення, але і через вплив на мікроциркуляторні процеси і рівні проапоптичних і прозапальних чинників.

Підрозділ *«Наукова новизна отриманих результатів»* повністю відображає основні положення роботи, адже автору вдалося не тільки висвітлити біохімічні механізми патології, але й запропонувати шляхи її фармакологічної корекції.

### **Практична цінність дослідження**

Робота має практичне значення, оскільки автор обґрунтував доцільність можливого використання модуляторів NMDA-рецепторів, які є відомими лікарськими препаратами, за новим призначенням і довів

доцільність диференційованого підходу при корекції ураження зорового аналізатора травматичної та ішемічної етіології.

Практичне значення дослідження підтверджується 2 Патентами України на корисні моделі (№75683; 87884). ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”” здійснює впровадження досліджуваних препаратів за новим призначенням – в якості нейроретинопротекторів (наказ від 14.12. 2017 р. №1217/14-01). Результати використовуються у науковій роботі та навчальному процесі кафедр біологічної та загальної хімії і фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету, кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету.

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

Застосовані автором методичні прийоми дослідження дозволяють отримати об’єктивні та достовірні результати, які повністю відповідають цілям і задачам дисертаційної роботи.

Висновки повністю відображають представлений у роботі фактичний матеріал, не суперечать йому й знайшли відображення в представлених до дисертаційної роботи публікаціях.

### **Загальні відомості про роботу**

Дисертація викладена українською мовою на 173 сторінках друкованого тексту і включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, два розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел.

### Характеристика змісту роботи

У *«Вступі»* автор обґрунтовує актуальність дисертаційного дослідження і звертає увагу на те, що адекватна корекція нейроретинодеструкції є неможливою без з'ясування тонких молекулярних механізмів даного ураження при впливі різних етіологічних факторів.

Зважаючи на означене, логічною виглядає мета дослідження – встановити роль модуляторів NMDA-рецепторів в механізмах нейроретинопротекції при ішемічному та травматичному пошкодженні ока і на цій основі експериментально обґрунтувати нові підходи до корекції патологічних змін в зоровому аналізаторі. Задачі дослідження повністю відповідають меті дисертаційної роботи і дозволяють успішно її вирішити. Підрозділ “Наукова новизна” отриманих результатів відображає основні положення роботи.

*«Огляд літератури»* присвячений аналізу літературних джерел щодо біохімічних механізмів ураження зорового аналізатора при його ішемічному і травматичному пошкодженні, а також можливих перспективних напрямків нейроретинопротекції при даних патологічних змінах. Дисертант зупинився на ролі глутаматної ексайтотоксичності, оксидативного стресу, запалення, стресу ендоплазматичного ретикулуму як основних чинників активації апоптозу клітин зорового аналізатора. Крім того, описані сучасні погляди на нейроретинокорекцію за допомогою фармакологічних агентів. Огляд літератури викладений логічно, досить лаконічно і грамотно. Автор провів глибокий і критичний аналіз сучасних досліджень в області біохімічних механізмів ішемічного і травматичного ураження зорового аналізатора та продемонстрував досягнення сучасної світової науки і невирішені проблеми. Останні і стали предметом даного дослідження.

*Розділ 2* роботи присвячений матеріалам та методам, використаним в дисертаційному дослідженні. Детально представлена характеристика тварин, розподіл їх за серіями, описано моделювання гострої ішемії/реперфузії ока у щурів і контузії ока у кролів.

Охарактеризовані використані в роботі реактиви, біохімічні цитометричні і функціональні методи дослідження, а також методи статистичної обробки цифрового матеріалу. Автор в роботі використовував широкий спектр методів дослідження, в першу чергу біохімічних, цитометричних і функціональні методи. Методи статистичного аналізу також цілком відповідали реалізації поставленої мети. Отже, адекватний набір сучасних методів досліджень забезпечує високий науковий рівень і дозволяє автору отримати результати, що мають незаперечне фундаментальне і прикладне значення.

*Розділ 3* присвячений встановленню впливу модуляторів NMDA рецепторів на показники нейроретинодеструкції при ішемічному і травматичному ушкодженні зорового аналізатора. Проведені дослідження свідчать, що моделювання ішемії/реперфузії (ІР) супроводжувалось значною ескалацією таких показників сироватки крові, як NSE і білка S100. В той же час блокатори NMDA-рецепторів знижують рівень цих показників диференційовано в залежності від того, на який сайт рецептора вони впливають. Так, найбільший ефект нейроретинодеструкції спостерігався при введенні амантадину сульфату (5мг/кг). Ці дані підтверджені і показниками клітинного циклу в сітківці, отриманими за допомогою ДНК-цитометрії – усі досліджувані блокатори NMDA-рецепторів сприяли зменшенню відповідної кількості ретиноцитів, які перебувають у фазах SUB-GOG1 та S клітинного циклу. Найбільш виразний антиапоптичний та антипроліферативний ефекти були притаманні також амантадину сульфату.

Дані, отримані при моделюванні стандартизованої контузії ока у кролів, також засвідчували найбільш виразну активність щодо попередження ескалації маркерів нейроретинодеструкції у блокатора поліамінового сайту NMDA-рецептора -амантадина, блокатор фенциклідинового сайту мемантин поступався попередньому в зменшенні активності процесів нейроретиноапоптозу та нейрогліопрولیферації.

Дослідження впливу модуляторів NMDA-рецепторів на мікроциркуляцію ока при досліджуваній патології виявлено їх здатності значно зменшувати (в 1,5-2,5 рази) порушення мікроциркуляції як при ішемічному, так і при травматичному ураженні зорового аналізатора в гострому періоді. При цьому найбільшу ефективність демонстрував також інгібітор поліамінового сайту амантадину сульфат.

**В 4 розділі** роботи автор досліджує зв'язок між метаболічними змінами в сітківці ока за ішемічного та травматичного ураження зорового аналізатора і модуляцією різних сайтів NMDA-рецепторів у експериментальних тварин. Дослідження метаболічних змін при ішемічному ураженні ока свідчить, що через 24 години після ІР в сітківці виникає енергодефіцит, проявляються ознаки оксидативного і нітрозативного стресу, підвищується рівень глутамату і знижується активність антиоксидантної системи.

Проведені дослідження встановили що амантадин та мемантин сприяють зменшенню розвитку мітохондріальної дисфункції, зниженню вмісту АТФ, деескалації ознак оксидативного і нітрозативного стресу, зменшенню рівня глутамату, причому, аналогічна спрямованість дії спостерігалась і при травмі ока.

Значний інтерес викликають ті частини роботи, де автор аналізує кореляційні зв'язки між сироватковими маркерами нейроретинодеструкції і біохімічними показниками ушкодженого зорового аналізатора і виявляє

найбільш сильний прямий кореляційний зв'язок між активністю NSE і рівнем глутамату в пошкодженні сітківки за ІР.

**В розділі 5**, автор провів ґрунтовний аналіз результатів, узагальнення яких надав у схематичному зображенні біохімічних механізмів нейроретинодеструкції за ішемічного і травматичного ушкодження зорового аналізатора .

Висновки роботи повністю відображають представлений в роботі фактичний матеріал, не суперечать йому і знайшли відображення в представлених до дисертаційної роботи публікаціях.

**Повнота викладення матеріалів у дисертації в опублікованих працях і авторефераті.**

Результати дисертаційної роботи, їх аналіз і узагальнення роботи повністю викладені в 16 опублікованих наукових працях, в тому числі: 1 стаття в зарубіжному виданні, 7 статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 6 – в збірках, матеріалах з'їздів та конференцій, 2 патенти України на корисну модель. Автореферат повністю відображає основний зміст дисертаційного дослідження та його положення.

**Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення**

В авторефераті і самій дисертаційній роботі суттєві недоліки щодо їх змісту та оформлення відсутні, однак наявні помилки редакційного характеру а саме: слід більш обережно використовувати словосполучення “дозозалежний ефект”, коли в діапазоні 3-х досліджуваних доз ефекти різняться за виразливістю у більшій дозі амантадину так само як і мемантину спостерігався менший ефект щодо рівня NSE в сироватці. Замість висловлювання “досить дієвий ефект” бажано охарактеризувати його кількісно. Таблицю 2.2 з розділу 2 більш доречно було би розмістити в розділі третьому.



Дані зауваження не носять принципового характеру і не впливають на інтерпретацію дослідження.

Під час ознайомлення з роботою у рецензента виникли запитання, які б могли стати предметом дискусії під час захисту.

1. Зважаючи на те, що досліджувані модулятори NMDA – рецепторів адамантованого ряду мають схожу хімічну будову, які механізми лежать в основі їх взаємодії з різними сайтами відповідних рецепторів ?

2. Відомо, що амантадин і мемантин мають виразливі дофамінергічні властивості, а через  $D_1$  -  $D_5$  дофамінові рецептори цнс в свою чергу реалізується позитивна і негативна регуляція проліферації клітин, а також процеси апоптозу, отже яким чином це може узгоджуватись з даними, отриманими автором за допомогою проточної цитометрії ?

#### **Відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Повха В.Л. є самостійним завершеним науковим дослідженням. Експериментальний матеріал опрацьований за допомогою сучасних методів статистики, є достовірним і не викликає сумнівів. Дисертація оформлена у відповідності до вимог ДАК України.

#### **Висновок**

Дисертаційна робота Повха Вячеслава Леонідовича на тему “Роль модуляторів NMDA-рецепторів в механізмах нейроретинопротекції за ішемічного і травматичного ураження зорового аналізатора” є самостійною, завершеною кваліфікаційною науковою роботою, яка повністю відповідає спеціальності «14.01.32 – медична біохімія». На основі встановлення ролі модуляторів NMDA-рецепторів в механізмах нейроретинопротекції за ішемічного та травматичного ураження зорового аналізатора, експериментально обґрунтовані підходи до корекції нейроретидеструктивних процесів за допомогою інгібітора поліамінового сайту амантадину сульфату.



За змістом, актуальністю, науковою новизною та практичною значимістю дисертаційна робота відповідає чинним вимогам, викладеним в п.10 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 щодо кандидатських дисертацій, а її автор – Повх Вячеслав Леонідович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.32 – медична біохімія.

Завідувач кафедри фармацевтичної,  
біологічної та токсикологічної хімії  
доктор мед. наук, професор, заслужений  
діяч науки і техніки України



*I.V. Nizhenkovska*  
Ніженковська І.В.

*I.V. Nizhenkovska*  
04/12 2018