

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертацію Іваночко Руслани Богданівни
“Стан системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа та особливості
оксидативних процесів у хворих з хронічною нирковою недостатністю за
умов гемодіалізу” представлену на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за фахом
14.01.32 – медична біохімія

Дисертаційне дослідження Р.Б. Іваночко присвячене з'ясуванню функціонального стану системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа та оксидативних процесів у хворих з хронічною нирковою недостатністю різної етіології за умов гемодіалізу.

Актуальність теми

На сьогодні добре відомо, що у виникненні і патогенезі багатьох хвороб, які супроводжуються порушенням регуляції судинного тону, чільне місце посідає дефіцит оксиду азоту. Велику увагу дослідників оксид азоту привертає як унікальний фактор регуляції тону судин (вазодилататор), важлива складова системи крово- і киснепостачання в організмі. Крім того, синтезований NO-синтазою ендотеліоцитів оксид азоту інгібує агрегацію тромбоцитів та адгезію нейтрофілів до судинного ендотелію, попереджаючи тим самим тромбоутворення. Зниження його продукції, або зміни співвідношення з вазоконстрикторами призводить до порушення регуляції тону судин – судинної дисфункції. Уремія є провідним чинником, який викликає зміни активності NO-синтази ендотеліоцитів судин та клітин паренхіми нирок і зумовлює розвиток патологічних змін у серцево-судинній системі хворих з хронічною нирковою недостатністю (ХНН). За умов ХНН потенційними чинниками формування дисфункції системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа можуть бути зміни продукції інших вазоактивних регуляторів, таких як гідроген сульфід та катехоламіни. Крім того, система синтезу оксиду азоту тісно пов'язана з вільнорадикальними процесами. Встановлена взаєморегуляція процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і системи синтезу оксиду азоту шляхом модуляції активності ферментів антиоксидантного захисту клітин – каталази, супероксиддисмутази, а також активності процесів пероксидації ліпідів. Це обумовлює актуальність та доцільність дисертаційної роботи щодо вивчення особливостей функціонування системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа та перебігу оксидативних процесів у хворих на ХНН різного генезу до та після гемодіалізу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Робота виконана в рамках комплексної наукової роботи кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького “Клініко-експериментальне обґрунтування

моніторингу, діагностики та стандартизованих методів лікування метаболічних захворювань внутрішніх органів та їх ускладнень”, ІН. 25.01.0001.10, держреєстр.0110U001641. Автор є співвиконавцем даної роботи.

Наукова новизна дослідження

Здобувачем, по суті, вперше охарактеризовані особливості стану системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа у комплексі з оцінкою рівнів її вазоактивних модуляторів (гідроген сульфід, катехоламінів, АДМА та СДМА) у плазмі крові та лізаті лімфоцитів хворих з ХНН. Так, на підставі визначення зниження рівня нітрит-аніону, L-аргініну, зростання рівня метаболічних інгібіторів NO-синтази (АДМА та СДМА), зниження рівня гідроген сульфід (агоністу NO) у плазмі крові виявлена дисфункція системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа. Також вперше виявлено, що у хворих з ХНН до сеансу гемодіалізу активізувались процеси ПОЛ, а після проведення процедури знижувався вміст ТБК-активних продуктів та поглиблювався дефіцит вітаміну С. Автор обґрунтовує, що факторами, які зумовлюють розвиток вазоконстрикції у хворих з ХНН з однієї сторони є зростання виділення норадреналіна, а з другої - зниження продукції місцевих регуляторних вазодилататорів - NO та гідроген сульфід.

Практична цінність дослідження

Результати дослідження поглиблюють уявлення про вплив сеансу гемодіалізу на складові системи системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа, рівень гідроген сульфід, катехоламінів та вітаміну С у хворих з ХНН різної етіології.

Встановлено, що метаболічними чинниками, які можуть прискорювати формування ендотеліальної дисфункції та погіршувати перебіг оксидативних процесів після сеансу гемодіалізу у хворих з ХНН крім дисфункції системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа є також дефіцит L-аргініну, гідроген сульфід, вітаміну С та зростання рівнів норадреналіну, АДМА та СДМА у плазмі крові. Отримані результати можуть бути використані для підтримки стану хворих на ХНН після сеансу гемодіалізу шляхом фармакологічної корекції рівнів L-аргініну та вітаміну С.

Практичне значення результатів даного дослідження підтверджується Патентом України на корисну модель (№110109) «Спосіб прогнозування стану хворих з діабетичною нефропатією за умов гемодіалізу».

Результати дослідження впроваджено у навчальний процес кафедр біохімії ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені Я.І. Горбачевського” МОЗ України, ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України.

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

Наукові положення та висновки дисертаційної роботи наводяться на підставі вичерпного аналізу результатів біохімічних і інструментальних досліджень, що базуються на адекватних методах та достатній статистичній і математичній обробці отриманого цифрового матеріалу. Весь комплекс застосованих методичних прийомів повністю відповідає цілям та задачам досліджень, кількість яких достатня для отримання достовірних результатів.

Загальні відомості про роботу

Дисертація викладена українською мовою на 156 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу і узагальненню отриманих результатів, висновків, списку використаних літературних джерел. Основний текст дисертації викладений на 121 сторінці. Робота ілюстрована 17 рисунками і 19 таблицями. Список використаних літературних джерел включає 229 найменувань, з них 57 кирилицею, 172 - латиницею.

Характеристика змісту роботи

Вступ до роботи написано лаконічно із залученням основних посилань на узагальнюючі літературні джерела. Він є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та завдань дослідження. У вступі охарактеризовано наукову новизну дослідження та її науково-практичну цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних, базових результатів дослідження.

Перший розділ роботи «*Огляд літератури*» вміщує основні положення, що стосуються аналізу особливостей сучасних уявлень про роль системи L-аргінін/NO-синтаза/аргіназа у хворих з хронічною нирковою недостатністю, розвитку процесів ліпопероксидації та активності ензимів антиоксидантного захисту при патології нирок, а також окремо висвітлюються біохімічні зміни за умов нефропатії та цукровому діабеті.

Другий розділ «*Матеріали та методи дослідження*» детально розкриває базові етапи роботи: наводиться загальна клініко-лабораторна характеристика хворих з хронічною нирковою недостатністю. Окремо надана характеристика пацієнтів обстежених на базі діалізної станції «DIAVERUM» (Люблін, Польща). Детально описана методика гемодіалізу та біохімічні методи дослідження. В цілому, матеріали, які викладені дисертантом у другому розділі, характеризуються високим рівнем методичних підходів для виконання дисертаційної роботи.

Викладення власних результатів зроблено згідно загальної мети та поставлених завдань. Автором доведено (*розділ 3*, що розвиток вираженої

ендотеліальної дисфункції у хворих на ХНН супроводжується зниженням у плазмі крові вмісту вазодилататорів NO та H_2S . При цьому, якщо вміст циркулюючого крові після гемодіалізу нітрит-аніону зменшується на 18%, то рівень H_2S - на 37, у порівнянні з контролем, що свідчить про синергічні зміни вмісту у крові ключових вазодилататорів NO та H_2S у хворих на ХНН, наслідком чого є зростання артеріального тиску.

Виявлено, що гемодіаліз у хворих на ХНН викликає зменшення вмісту у плазмі крові факторів, які регулюють тонус судин та функціональний стан ендотеліоцитів (L-аргінін, NO^{2-} , H_2S), у порівнянні з відповідними показниками до діалізу, крім того, зменшується вміст ендогенних аналогів аргініну, що негативно впливає на серцево-судинну систему. Оцінюючи стан нітрузо-оксидативних процесів автор показав, що після гемодіалізу, у порівнянні з показниками до діалізу, у плазмі крові на тлі зменшення рівня уремії ще вираженіше знижуються концентрації L-аргініну, нітрит-аніона, асиметричний диметиларгінін та симетричний диметиларгінін, гідроген сульфід, вітаміну С, вміст ТБК-активних продуктів та рівень активності аргінази. Як відомо, серед багатьох чинників, що впливають на стан серцево-судинної системи у хворих з ХНН є рівень катехоламінів у крові. Автором показано, що у хворих з ХНН, порівняно з показниками контрольної групи, у плазмі зростає концентрація норадреналіну у 2,3 рази. Після сеансу гемодіалізу в хворих із термінальною стадією ниркової недостатності концентрації норадреналіну в плазмі знижуються у порівнянні з його вмістом перед процедурою.

Оскільки цукровий діабет є частим ускладненням хворих з ХНН подальше дослідження було присвячено змінам активності системи L-аргінін / нітрогену оксид / аргіназа, гідрогену сульфід та оксидативних процесів у плазмі крові хворих з хронічною нирковою недостатністю та цукровим діабетом 2-го типу до та після гемодіалізу. Виявлено, що у плазмі крові хворих з ХНН з наявним ЦД 2-го типу зміни показників нітрузо-оксидативних процесів та системи антиоксидантного захисту були такими ж як у хворих з ХНН без цукрового діабету. Процедура гемодіалізу у хворих на ХНН з ЦД 2 типу не мала особливостей щодо досліджуваних показників нітрузо-оксидативних процесів у порівнянні з показниками крові хворих з ХНН без ЦД. Хворі на ХНН з та без ЦД мають значний дефіцит вмісту L-аргініну та вітаміну С після сеансу гемодіалізу, порівняно з показниками групи донорів та їх рівнем до гемодіалізу.

В *розділі 4* наводяться результати вивчення ролі системи L-аргінін/нітрогенуоксид/аргіназа та оксидативних процесів в лізаті лімфоцитів хворих з ХНН до та після гемодіалізу.

Показано, що у лізаті лімфоцитів хворих з ХНН відбуваються виражені зміни у системі L-аргінін/нітрогену оксид/аргіназа, а також зміни про- і антиоксидантних процесів. Про це свідчить зростання активності NO-синтази та зниження вмісту важливих регуляторних факторів - L-аргініну, нітрит-аніону та H_2S . Зміни функціонування NO-синтаної

системи є вкрай небезпечним для організму хворих на ХНН, оскільки лімфоцити приймають участь в імунологічному захисті організму.

Автором також відзначені особливості змін активності iNOS та eNOS у лізаті лімфоцитів хворих з ХНН та ЦД 2-го типу порівняно з відповідними показниками хворих на ХНН без ЦД.

Рівень активності iNOS у лізаті лімфоцитів хворих з хронічною нирковою недостатністю та цукровим діабетом 2-го типу до гемодіалізу був значно вищим, порівняно з показниками хворих ХНН без цукрового діабету у три рази. Активність eNOS після гемодіалізу знижувалась значно менше у порівнянні із хворими без цукрового діабету.

Аналіз та узагальнення результатів *(розділ 5)* викладено у відповідності до послідовності завдань роботи та окремих розділів власних досліджень. Ознайомлення з цим розділом дало відчуття цілісності виконаної роботи. Автор володіє знанням сучасної наукової літератури, вміло описує та аналізує отримані результати.

Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та відображають основні напрями роботи. Вони викладені послідовно, що свідчить про відповідні досягнення при розв'язанні поставлених завдань та мети роботи.

Список використаних джерел складено згідно існуючих вимог, із чітким дотриманням діючих правил щодо бібліографічних посилань.

Повнота викладання матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті

Фактичні дані, а також теоретичні узагальнення повною мірою висвітлені у 10 публікаціях, із яких: 4 – у фахових наукових виданнях України, 1 – у періодичному іноземному виданні, 4 – у матеріалах наукових конференцій, 1 патент України на корисну модель.

Автореферат за змістом відповідає суті дисертаційної роботи, і в ньому відображено головні її положення.

Під час офіційного захисту, на нашу думку, варто обговорити наступні питання:

1. Які фактори на Вашу думку викликають зниження вмісту L-арнініну у плазмі крові хворих на ХНН?
2. У своїй роботі Ви показали, що розвиток ендотеліальної дисфункції пов'язаний з дисбалансом між впливом вазодилататорів та вазоконстрикторів. Яка роль у цьому асиметричного диметиларгініну?
3. Які показники плазми крові, що досліджувались Вами у хворих на ХНН, найбільш виражено знижувались після сеансу гемодіалізу і що у зв'язку з цим Ви рекомендуєте для лікарів?

Відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Іваночко Р.Б. є самостійно виконаною, завершеною роботою, в якій отримано нові науково обґрунтовані результати. Вона відповідає вимогам ДАК України за новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, рівнем узагальнень і висновків, а також технічним оформленням роботи.

Висновок

Дисертаційна робота Іваночко Руслани Богданівни “Стан системи L-аргінінін/NO-синтаза/аргіназа та особливості оксидативних процесів у хворих з хронічною нирковою недостатністю за умов гемодіалізу” є завершеною, самостійно виконаною кваліфікаційною науковою роботою, яка за змістом, актуальністю, науковою новизною та практичною значимістю 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 (зі змінами) щодо кандидатських дисертацій, а її автор - Іваночко Руслана Богданівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.32 – медична біохімія

Заступник директора з наукової роботи,
завідувач лабораторією цитогенетики

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної
медицини НАМН України»

доктор мед. наук, старший наук. співр.



Новікова С.М.

