

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук Серединської Наталії Миколаївни на дисертаційну роботу Левченко Катерини Віталіївни «КАРДІОПРОТЕКТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ СЕЛЕКТИВНИХ МОДУЛЯТОРІВ ЕСТРОГЕНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА», представленій до спеціалізованої вченої ради Д26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія

Актуальність теми. Складність фармакологічної корекції гострого інфаркту міокарда окреслює одну з найпріоритетніших проблем сучасної медицини. Численні лікарські засоби, що нині застосовуються у всьому світі, зокрема, у гострий період розвитку цієї патології не в повній мірі забезпечують міокард від подальшого ураження, поглиблення патологічного процесу, ускладнень тощо. Така ситуація розвивається через те, що існуючі лікарські засоби не повною мірою або взагалі не коригують метаболічні зміни в міокарді та не сприяють швидкому та ефективному відновленню функціонально-біохімічних процесів в кардіоміоцитах, в клітинах судин. Тому актуальним завданням фармакології сьогодення є, зокрема, пошук та створення нових кардіопротекторних препаратів, що можуть застосовуватися при гіпоксичному ураженні клітин, здатних індукувати фактори ендогенної цитопротекції (HSP-білки, HIF-білки, транскрипційно активний комплекс HIF, NO та інші).

Дані окремих експериментальних досліджень свідчать про захисні властивості естрогенів, здатних індукувати експресію шаперонів, щодо впливу на кісткову тканину, серцево-судинну та центральну нервову системи. Відомо, що естрогени впливають на вторинні статеві ознаки, мітотичну активність міометрію, проліферацію фолікулярних клітин яєчників стимулюють розвиток жіночих статевих органів. Естрогени підвищують чутливість міометрія до ацетилхоліну й окситоцину, підсилюють спонтанні скорочення матки, гальмують секрецію гонадотропінів аденогіпофізом, усувають розлади в клімактеричний період або після гінекологічних операцій. Поряд із впливом на репродуктивну функцію естрогени викликають затримку азоту, натрію, рідини, знижують рівень холестерину, підсилюють гемокоагуляцію, збільшують синтез простагландинів, сприяють розширенню судин. Водночас, саме притаманні естрогенам гормональна активність та вплив на систему згортання крові утруднюють їхнє впровадження в клінічну практику в якості кардіопротекторних препаратів, зокрема.

Цікавим і перспективним напрямком сучасної фармакології, фізіології, патофізіології, молекулярної біології тощо є застосування в якості агоністів естрогенових рецепторів так званих селективних модуляторів естрогенових рецепторів (SERM). Ці речовини за хімічною будовою не належать до естрогенів. Однак завдяки особливостям своєї молекулярної структури та

фізико-хімічним властивостям вони здатні, як і естрогени, взаємодіяти з естрогеновими рецепторами. Виявлення великої кількості естрогенових рецепторів у різних органах у осіб обох статей може бути свідченням їхньої участі у регуляції діяльності цих органів як за фізіологічних умов, так і на тлі патологічних процесів. Тому передбачення щодо ефективності SERM, зокрема, за гіпоксичного стану, що спостерігається на тлі гострого інфаркту міокарда, обґрунтовує актуальність дисертаційного дослідження Левченко Катерини Віталіївни.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт кафедри клінічної лабораторної діагностики «Запорізького державного медичного університету» та є фрагментом НДР кафедри клінічної лабораторної діагностики ЗДМУ: «Розробка нових ефективних шляхів діагностики та ендогенної цитопротекції ішемічних пошкоджень коронарного та церебрального кровообігу» (№ державної реєстрації 0118U004369).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація побудована згідно вимог, що пред'являються до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня кандидата наук, викладена на 178 сторінках комп'ютерного тексту українською мовою. Дисертація включає анотацію, викладену двома мовами (українською та англійською) і складається зі вступу, огляду літератури, розділу щодо матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень і аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку літератури, до якого входять 244 джерела, а також додатків. Робота ілюстрована 19 таблицями та 6 рисунками.

Оцінка змісту роботи та її завершеність. Розділ дисертації «Вступ» розкриває актуальність теми, сучасний стан даної проблеми, обґрунтування доцільності проведення даного дослідження, містить мету та задачі, наукову новизну і практичну значимість роботи. Об'єкт та предмет досліджень сформульовані коректно та окреслюють важливе завдання для фармакології щодо вивчення ефективності сполук – SERM на тлі гіпоксичного ураження міокарда та визначають власне показники, за якими буде здійснюватися доведення їхньої ефективності. Завдання дослідження поставлені таким чином, щоб досягти відповідної мети щодо визначення доцільності використання SERM в якості кардіопротекторних засобів на тлі гострого ішемічного пошкодження міокарда.

Розділ дисертації «Молекулярно-біохімічні механізми ішемії кардіоміоцитів та фармакологічна корекція метаболічних змін за умов гострого інфаркту міокарда» (огляд літератури) автором викладено чітко, логічно. Підрозділ 1.1 щодо молекулярно-біохімічних механізмів власне гіпоксичного пошкодження кардіоміоцитів включає дані не лише експериментальних досліджень, а й інформацію, що отримана науковцями світу з численних клінічних досліджень, в т.ч. – рандомізованих багато центрових. Суттєве значення має інформація щодо встановлених нових механізмів розвитку ішемії міокарда, пов'язаних з ендотеліальною дисфункцією. Особливу увагу дисертантка приділила аналізу літератури, що стосується ролі метаболічних перетворень за умов патології серця та судин і

охарактеризувала основні механізми порушення гомеостазу. Це дало змогу Левченко К.В. виокремити основні, за сучасними науковими уявленнями, молекулярно-біохімічні порушення в серці та судинах, визначити відповідні субстрати та зазначити структурні елементи клітин, функціонування яких порушується на тлі гострої ішемії міокарда.

Фармакологічну спрямованість роботи та зацікавленість дисертанта щодо вивчення шляхів фармакологічної корекції гіпоксії міокарда підтверджують дані підрозділу 1.2 огляду літератури, що присвячені не лише аналізу даних щодо патофізіологічних аспектів ішемії, а й інформації щодо можливого впливу метаболічних засобів терапії. Особливої уваги заслуговують дані наступного підрозділу огляду літератури щодо ролі естрогенів у реалізації репродуктивних можливостей організму та у регуляції діяльності інших органів і систем, зокрема, серцево-судинної системи. Саме знання дисертанта щодо біологічної ролі естрогенів дозволили Левченко К.В. разом з науковим керівником визначити перспективність та доцільність дослідження SERM, зокрема тамоксифену, тореміфену, лівіалу, що широко застосовуються в клінічній практиці, здебільшого, для лікування онкологічних захворювань, остеопорозу у жінок в постменопаузальному періоду, в якості кардіопротекторних засобів.

Таким чином, за визначення теми, мети та завдань дисертаційної роботи Левченко К.В. керувалася знаннями щодо загальної біологічної активності SERM, розповсюдженості, характеристиках та функціях естрогенових рецепторів, а також науковими літературними відомостями щодо можливих шляхів фармакологічної корекції ішемічного стану міокарда.

Досить детальним та об'ємним є другий розділ роботи «Матеріали та методи дослідження». Дослідження проведені на сучасному методичному рівні на моделях *in vitro* та *in vivo* з використанням достатньої кількості тварин із застосуванням сучасних методів дослідження. Детально охарактеризовані дизайн дослідження, рандомізація тварин, лікарські засоби, а також методи: фармакологічні, гематологічні, фізіологічні, біохімічні, молекулярно-генетичні, електронно-мікроскопічні та статистичні.

Третій розділ дисертації, присвячений аналізу результатів власних досліджень, має велику кількість пунктів та підпунктів, що ускладнює сприйняття матеріалу. На мою думку, невіддале форматування за окремими розділами матеріалу власних досліджень є недоліком роботи. Водночас, зазначений недолік не нівелює наукове значення отриманих результатів, їхню наукову та практичну цінність та достовірність.

Так, за даними досліджень *in vitro* визначено динаміку змін макроергічних фосфатів, активацію гліколізу та порушення функціонування циклу Кребса на тлі розвитку енергодефіциту та оксидативного стресу за умов МФП-індукованої гіпоксії, а також виявлена та статистично доведена позитивна зміна досліджуваних показників за дії естрадіолу валеріату, тамоксифену, тореміфену та лівіалу. На мою думку, даний підрозділ роботи можна було би виокремити у розділ та більш детально охарактеризувати у порівняльному аспекті вплив різних SERM. По-суті, дисертантка визначає

найбільше та найменше активний препарат за впливом на різні показники та процеси, однак окремого висновку за такими результатами не зроблено.

Лаконічний, водночас, вельми показовий розділ, присвячений аналізу морфофункціональних та ультраструктурних змін кардіоміоцитів за умов гіпоксії *in vitro*. За даними цих досліджень також встановлені переваги відповідних SERM над лівіалом.

З фармакологічної точки зору суттєвий інтерес являє розділ роботи, присвячений визначенню ефективних доз SERM та референтних препаратів за умов експериментального гострого інфаркту міокарда та визначення середньої ефективної дози за 3D-аналізом

Ефективність SERM доведена Левченко К.В. у дослідах *in vivo*. За даними електрокардіографічного дослідження показана протекторна дія SERM, що аналогічна за силою дії препаратів порівняння. На жаль, за текстом дисертації автор не зробила відповідного висновку.

Важливий висновок зроблений дисертантом відносно впливу SERM на тромбоцитарно-судинний гемостаз. З огляду на зазначений вище ефект естрогенів, можливо, саме той факт, що SERM сприяють незначній нормалізації показників коагуляційного і судинно-тромбоцитарного гемостазу, їхнє застосування на тлі гіпоксії міокарда буде більш виправданим.

Переконливі результати Левченко К.В. отримала та проаналізувала за вивчення впливу SERM на енергетичний метаболізм міокарда за модельної патології. Значущі дані свідчать про переважаючий вплив тореміфену на більшість з досліджених показників енергетичного обміну в кардіоміоцитах. Суттєвим є те, що SERM спричинювали більш виражений вплив на енергетичний метаболізм міокарда на тлі патологічного стану, ніж препарати порівняння, що обґрунтовує недоцільність застосування останніх, принаймні, для нормалізації досліджуваних показників енергетичного обміну. Переважний вплив тореміфену засвідчений результатами дослідження факторів ендогенної цитопротекції на тлі гострого інфаркту міокарда.

Розділ щодо аналізу та узагальнення результатів дослідження, доводить, що дисертант аналітично мислить і може співставляти дані літератури з результатами власних досліджень, коректно висловлюючи свою думку або передбачення щодо можливих механізмів реалізації кардіопротекторної дії SERM, а також даючи рекомендації щодо можливої сфери застосування отриманих результатів дослідження і перспективності подальших досліджень.

Висновки, зроблені Левченко К.В., чіткі, коректні, базуються на фактичному експериментальному матеріалі, статистично підтверджені, фактично відповідають завданням дослідження, містять репрезентативні дані.

Список літературних джерел оформлено згідно відповідних вимог до бібліографічних даних, посилання за текстом дисертації відповідають за змістом та суттю вказаній науковій праці.

Наукова новизна отриманих результатів. Фактичною новизною результатів дисертаційного дослідження Левченко К.В. є те, що була в

дослідах *in vivo* та *in vitro* встановлена кардіопротективна дія селективних модуляторів естрогенових рецепторів. Кардіотропна активність SERM доведена на тлі гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro*, що підтверджено здатністю SERM позитивно впливати на ультраструктурні зміни у цих клітинах. За умов моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vivo* та *in vitro* встановлені їх антиоксидантні та енерготропні властивості. Визначено, що в умовах гострого інфаркту міокарда SERM модулює експресію і концентрацію у кардіоміоцитах HSP-70-білків та eNOS. На моделі гострого інфаркту міокарда встановлена здатність SERM зменшувати вміст у плазмі крові маркерів пошкодження кардіоміоцитів (тропонін I, ST-2). Кардіопротективна дія в умовах гострого інфаркту міокарда проявлялась у здатності SERM підвищувати кількість тварин, які вижили на 4 добу інфаркту міокарда.

Отримані дані можуть бути теоретичним та експериментальним обґрунтуванням доцільності проведення доклінічних досліджень SERM як кардіопротекторних засобів для подальшого впровадження позитивних результатів у практику охорони здоров'я.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дисертаційної роботи Левченко К.В. розширили знання фармакологів щодо фармакологічних особливостей дії відомих модуляторів естрогенових рецепторів. Зокрема, досліджений кардіопротекторний вплив тореміфену та тамоксифену на рівні молекулярно-біохімічних змін в кардіоміоцитах та функціонування серця за умов гіпоксичного пошкодження *in vitro* та *in vivo* дозволяє рекомендувати проведення доклінічних досліджень SERM в якості кардіопротекторів. Отримані дисертанткою дані дозволяють передбачити можливі механізми кардіопротекторної дії SERM і є теоретичним підґрунтям для подальшого поглибленого дослідження їхніх кардіопротекторних властивостей та молекулярних механізмів дії.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Отримані К.В. Левченко результати і розроблені на їхній основі висновки та рекомендації базуються на логічно спланованих дослідженнях на достатній кількості тварин, проведених з використанням сучасних методів оцінки антиоксидантних властивостей SERM, впливу на енергетичний метаболізм, експресію та синтез факторів ендогенної цитопротекції за гіпоксичного стану міокарда у дослідах *in vivo* та *in vitro*.

Всі дослідження проведені в порівняльному аспекті між контрольною та дослідними групами, з визначенням переваг за впливу різних представників SERM. Визначені переваги того чи іншого препарату, фактично, за усіма досліджуваними показниками.

Висновки та практичні рекомендації базуються на результатах власних досліджень і є відображенням певних закономірностей, що статистично підтверджені за умов глибокого фармакологічного аналізу даних.

Вище зазначене дає підстави стверджувати, що наукові положення та висновки дисертації К.В. Левченко є цілком обґрунтованими, достовірними, узгодженими з метою та задачами дослідження.

Повнота викладення результатів в опублікованих працях та рефераті. Результати досліджень, проведених Левченко К.В. за виконання дисертаційної роботи, її основні наукові положення відображені у 13 наукових працях, з яких 6 статей у фахових журналах та 7 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій та з'їздів.

Автореферат дисертації оформлений згідно відповідних вимог, за змістом він відповідає дисертації та містить її основні положення.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. За аналізом кожного з розділів роботи у відгуку на дисертацію Левченко К.В. викладені основні недоліки і мої, як рецензента, побажання. Вони, в основному, стосуються того, що автором не надано системної порівняльної характеристики різних SERM щодо впливу на досліджувані показники. Водночас, за текстом дисертації, на жаль, не за усіма показниками, що характеризують різні механізми дії, зазначаються переваги тореміфену над лівіалом та тамоксифеном. Рекомендую Левченко К.В. за планування наступних досліджень особливу увагу звертати на різність сили дії препаратів і надавати порівняльну оцінку впливу різних SERM на досліджувані показники.

Не приведено у дисертації переконливого обґрунтування вибору препаратів порівняння. Таке зауваження зумовлено, перш за все тим, що автор дисертації моделює гострий період гіпоксії міокарда і, власне, проводить дослідження саме в цей період. Водночас, обрані препарати порівняння, що є метаболічними засобами, не застосовуються у гострий період інфаркту міокарда. Не зазначено, якими документами регламентоване застосування капі кору. Однак, дійсно, їхній (препаратів порівняння) метаболічний та цитопротекторний вплив може бути використаний для порівняння за певного наукового обґрунтування (з урахуванням періоду інфаркту, з урахуванням ефективних доз і порівнянням їх з модуляторами естрогенових рецепторів, що, засвідчить перевагу останніх, з урахуванням терміну застосування для досягнення потрібного ефекту, фармакокінетичних особливостей тощо).

Зазначені недоліки не нівелюють наукову цінність та практичне значення отриманих Левченко К.В. результатів, не спростовують їх, не впливають на висновки, зроблені дисертанткою, а, навпаки, підкреслюють необхідність подальших (доклінічних) досліджень щодо кардіопротекторної активності SERM, відкривають певні напрями фармакологічного вивчення з метою впровадження результатів у практику охорони здоров'я, а надані результати роботи породжують дискусійні питання.

Дискусійні питання:

1. Чому тореміфен, тамоксифен, лівіал позиціонуються як селективні модулятори естрогенових рецепторів? Приведіть, будь ласка, приклади наукових досліджень, що підтверджують дану тезу.
2. Ви зазначаєте, що ефекти SERM є загально біологічними. На яких наукових даних ґрунтується таке твердження?

3. За яких патологічних станів, на Вашу думку, крім специфічної для досліджуваних Вами препаратів і патології мозку, можуть бути ефективними SERM?
4. Назвіть, будь ласка, препарати, що застосовуються у гострий період інфаркту міокарда і висловіть Вашу думку щодо можливої взаємодії цих препаратів з SERM?
5. Охарактеризувавши препарат капікор, зазначте, якими документами регламентується його застосування за гострого інфаркту міокарда, у яких дозах і за якою схемою?

Висновок щодо відповідності встановленим вимогам. Дисертаційна робота Левченко Катерини Віталіївни «Кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов експериментального інфаркту міокарда», де наведено експериментально-теоретичне узагальнення та розв'язання наукового завдання, що полягало в оцінці кардіопротекторних властивостей SERM в умовах моделювання гіпоксії *in vitro* та *in vivo*, за обсягом проведених досліджень, повнотою публікацій результатів роботи у фахових виданнях є завершеною самостійною науковою працею, що за суттю відповідає спеціальності 14.03.05 – фармакологія.

За актуальністю обраної теми, методичним рівнем досліджень та науково-практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота Левченко Катерини Віталіївни «Кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов експериментального інфаркту міокарда» відповідає п.11 «Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013р., №567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент –

доктор медичних наук,
завідуюча відділом фармакології
ДУ «Інститут фармакології та
токсикології НАМН України»

Сердюк Н.М. Серединська

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
НАМН УКРАЇНИ

Підпис *Н.М. Серединська*
Засвідчую
Учений секретар
В.Ф.К. Чарин

"20" *09* 20 *18* р.

