

ВІДГУК

Офіційного опонента завідувача кафедри клінічної лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету МОЗ України, доктора біологічних наук, доцента Павлова Сергія Васильовича на дисертаційну роботу Джигалюк Ольги Вікторівни на тему «Кардіопротекторні властивості похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії міокарда», представленої до спеціалізованої Вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми. За статистичними даними ВООЗ захворювання серцево-судинної системи гіпоксичного генезу є одними з лідерів у структурі захворюваності та смертності в усьому світі. Вони супроводжуються високою смертністю, призводять до тимчасової (часткової або повної), а інколи й постійної втрати працездатності, знижуючи трудові резерви суспільства. Нині в арсеналі сучасної медицини існують багато лікарських засобів, що застосовуються для лікування ішемічних станів міокарда. Проте більшість з них впливає на перед- або пост-навантаження та не діє на метаболізм у клітині. Крім того, існуючі метаболічні препарати не показали своєї ефективності в першу добу даної патології, їхній ефект настає через 8-10 діб. Водночас за даними низки експериментальних досліджень, важливим завданням корекції гіпоксичних станів є відновлення молекулярно-біохімічних реакцій у клітині, що спрямовані на синтез функціонально-активних молекул, що сприяє відновленню компенсаторних реакцій у клітині. У зв'язку з вищенаведеним подальший пошук нових кардіопротективних лікарських засобів залишається доцільним та актуальним.

Згідно з літературними даними, нині перспективним напрямом у створенні нових цитопротекторних препаратів, що застосовуються при гіпоксичному ураженні клітин, є пошук сполук, здатних індукувати фактори ендогенної цитопротекції (HSP-білки, HIF-білки, транскрипційно активний комплекс HIF, NO тощо). На сьогодні активно проводиться пошук сучасних кардіопротективних лікарських засобів серед речовин, здатних модулювати молекулярно-біохімічні реакції у кардіоміоцитах в умовах ішемії, корегуючи тим самим, метаболізм клітини в цілому. Саме тому, сьогодні ведеться інтенсивний пошук нових речовин -потенційних кардіопротекторів з метаболітотропною дією, які б могли стати основою для створення більш ефективного та безпечного вітчизняного лікарського засобу, і це є актуальною задачею фармакології. У цьому плані, автором, цілком обґрунтовано було обрано синтезовані на кафедрі органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету похідні 4-оксо(аміно-) хіназоліну.

Багатьма попередніми дослідженнями серед похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну були виявлені речовини з актопротекторною та антистресовою активністю, захисною дією на ішемізований головний мозок. Доведено, що церебропротекторні ефекти та стимулююча дія на фізичну витривалість в екстремальних умовах, головним чином, пов'язані зі здатністю найбільш активних похідних хіназоліну покращувати перебіг біоенергетичних процесів, нормалізувати показники оксидантно-антиоксидантної системи організму та наявність антигіпоксичного та цитопротекторного ефектів. Наведені дані дають підстави розраховувати на виявлення кардіопротекторних властивостей у похідних цього класу хімічних сполук, та обґрунтовує актуальність дисертаційного дослідження Джигалюк О.В.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (ВНМУ) і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармакології «Пошук та розробка нових шляхів фармакологічної корекції порушень при ішемічному ушкодженні мозку та серця в експерименті» (№ держ. реєстрації 0112U0001939). Дисертант була співвиконавцем даної НДР.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 182 сторінках комп'ютерного тексту тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4-х розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів проведеного дослідження», висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 25 таблицями, 16 рисунками та 3 схемами. Список використаних джерел містить 223 найменування.

Оцінка змісту роботи та її завершеність. Розділ дисертаційної роботи «Вступ» розкриває актуальність теми, сучасний стан проблеми, обґрунтування доцільності проведення експериментального дослідження. Завдання дослідження поставлені таким чином, щоб досягти відповідної мети щодо встановлення наявності та ступеню кардіопротективного ефекту в ряду похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну.

Розділ дисертаційної роботи «Сучасні підходи до фармакотерапії гострої ішемії міокарда та перспективи використання похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (огляд літератури)» автором викладено чітко та розкривають сучасні напрямки щодо створення нових кардіопротективних лікарських засобів.

Особлива увага автором приділена розкриттю сучасних молекулярних ланок патогенезу ішемії міокарду (оксидативний, нітрозуючий стреси; метаболізм оксиду азоту) з паралельним обґрунтуванням основних «мішеней» фармакологічної корекції цього патологічного стану.

У другому розділі роботи «Матеріали та методи дослідження» дисертанткою обґрунтовано загальну методологію, запропоновано дизайн

експериментального дослідження, описано характеристики об'єктів та методів дослідження, наведено характеристику матеріалів та обладнання які використовувались в ході виконання дисертаційної роботи. Разом з цим, деяким недоліком є недостатня аргументація обраних експериментальних моделей, а також не досить чітке обґрунтування обраних препаратів порівняння.

Третій розділ «Скринінг кардіопротекторної дії у ряду похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну» присвячений скринінговому дослідженню кардіопротективної властивості похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну. Дисертантом встановлено що трьохкратне профілактичне введення тваринам досліджуваних сполук в дозі 10 мг/кг, так само як і аміодарону (10 мг/кг); мексидолу (100 мг/кг) та тіотриазоліну (100 мг/кг), сприяло зменшенню показника летальності щурів у критичний період експерименту. Зазначена дія у найбільшій мірі проявилась на тлі призначення сполук з лабораторними шифрами ПК 32, Пк 51 та ПК 66. Крім того, з'ясовано, що ПК-66 в дозі 10 мг/кг в/оч при курсовому лікувальному введенні щурам з ЕІМ в такій же мірі, як і аміодарон (10 мг/кг, в/оч), мексидол (100 мг/кг, в/оч) та тіотриазолін (100 мг/кг, в/оч), сприяє підвищенню фізичної витривалості тварин, що може бути ознакою кардіопротекторного ефекту у досліджуваного похідного хіназоліну. При лікувальному введенні в організм за ступенем кардіопротекторної дії (показником зниження летальності) досліджувані речовини розташовувались у такий ряд: ПК-66 = аміодарон $\geq$ мексидол > тіотриазолін > ПК-32 > ПК-51. Таким чином, за результатами обох досліджень в умовах ДТК-ІМ, сполукою-лідером визнано ПК-66. Результатом фармакологічного скринінгового дослідження було встановлено сполуку-лідер – ПК 66.

Четвертий розділ дисертації «Характеристика ефективності сполуки ПК-66 на моделях адреналінової та норадреналінової міокардіодистрофії у щурів», присвячений дослідженню кардіотропних властивостей ПК 66 на різних модельних патологіях ішемії міокарду. Цей розділ має велику кількість пунктів та підпунктів, що ускладнює сприйняття матеріалу. На мою думку, невдале форматування за окремими розділами матеріалу власних досліджень є недоліком роботи. Особливо це стосується досліджень щодо вивчення ефективності сполуки на адреналовій та норадреналовій моделях ішемії міокарда. Потребує більш переконливо аргументувати вибір цих моделей та необхідність вивчення дії сполуки окремо на цих моделях ішемії. Тим більш, що дослідження впливу сполуки ПК 66 на електрофізіологічні та біохімічні показники проводились на адреналовій моделі ішемії міокарда. Крім того, бажано представляти отриманий цифровий матеріал з більш детальною статистичною обробкою. Разом з цим, на підставі проведених досліджень автором був описаний гіпотетичний механізм кардіопротективної дії ПК 66 в умовах експериментальної ішемії міокарда. Так, на думку автора, механізми

кардіопротекторної дії сполуки ПК-66 можуть реалізуватись через стабілізацію клітинних та субклітинних мембран (про що свідчила динаміка маркерних ензимів цитолізу кардіоміоцитів в сироватці крові та зменшення вмісту ТБК-активних продуктів в міокарді), підвищення ефективності антиоксидантної системи та корекцію клітинного редокс-буферу (про що свідчило підвищення пулу відновленого глутатіону, збільшення активності глутатіонпероксидази та СОД) та протиішемичну дію, асоційовану із модуляцією активності NO-синтази в серцевому м'язі.

П'ятий розділ дисертаційної роботи «Оцінка ефективності ПК-66 за його впливом на морфологічну картину ішемізованого серця на тлі адреналінової та норадреналінової міокардіодистрофії у щурів» присвячений аналізу морфофункціональних змін кардіоміоцитів за умов моделювання ішемії міокарду. Автором проведено величезний об'єм експериментальних досліджень та отримані дані щодо здатності сполуки ПК 66 впливати на морфофункціональні показники кардіоміоцитів. Однак, варто зазначити, що при дослідженні морфофункціональних показників на адреналовій моделі ішемії міокарда, автором наведений цифровий матеріал зі статистичною обробкою результатів, а в умовах норадреналової моделі – лише наведено описову характеристику клітин. Водночас, зазначений недолік не нівелює наукове значення отриманих результатів.

Шостий розділ «Вплив ПК-66 на основні показники кардіальної та центральної гемодинаміки у кролів з моделлю гострої ішемії міокарда» був присвячений дослідженню впливу сполуки-лідера ПК-66 на показники гемодинаміки за умов експериментальної гострої ішемії міокарда (ГІМ) у кролів у порівнянні з аміодароном. Як відомо, одним із важливих показників функціонування міокарда є показники гемодинаміки, що дозволяють оцінити позитивний протекторний ефект речовин, які вивчаються на фоні ІМ в експериментальних дослідженнях. Автором отримані дані щодо здатності ПК-66 нормалізувати основні показники кардіальної та системної гемодинаміки у кролів з експериментальним гострим інфарктом.

Розділ щодо аналізу та узагальнення результатів дослідження доводить, що дисертант аналітично мислить і може співставляти дані сучасних літературних джерел з результатами власних досліджень, а також даючи рекомендації щодо можливої сфери застосування отриманих результатів. Разом з цим, на мою думку, автору необхідно було більш детально охарактеризувати дію сполуки лідера на молекулярно-біохімічні аспекти патогенезу ішемії міокарду, а також охарактеризувати можливий рецепторний механізм дії ПК 66, враховуючи наявність у цієї сполуки пептидергічних зав'язків.

Висновки що зроблені Джигалюк О.В. досить аргументовані та базуються на фактичному експериментальному матеріалі, відповідають завданням дослідження, містять репрезентативні дані.

Список літературних джерел загалом оформлений згідно відповідних вимог до бібліографічних даних, за винятком деяких, посилання за текстом дисертації відповідають за суттю вказаній науковій праці. Разом з цим, варто зазначити на доцільність аналізу більшого об'єму літературних джерел за останні 5 років, враховуючи стрімкий ріст наукових досліджень щодо розробки нових кардіопротективних лікарських засобів.

Наукова новизна отриманих результатів. Фактичною новизною результатів дисертаційного дослідження Джигалюк О.В. є те, що були встановлені кардіопротективні ефекти в ряді похідних 4-оксо(аміно)-хіназоліну. У роботі автором вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено, що похідні 4-оксо(аміно)-хіназоліну є носіями кардіопротекторної активності, яка переважно притаманна сполукам, що містять у положенні 3 4-оксихіназолінового циклу п-карбоксифенільний (ПК-66) або етоксикарбоксилфенілацильний (ПК-32) залишки, і, що суттєво для останнього, важливим є наявність нітрогрупи у положенні 6 молекули. Автором встановлена захисна дія ПК-66 в умовах адреналінової та норадреналінової міокардіодистрофій. На моделі адреналінового пошкодження серця кардіопротекторна дія ПК-66, як і аміодарону, призводила до зниження показників летальності, підвищення фізичної витривалості тварин, відновленню функціонального стану серця на ЕКГ, а також нормалізації в міокарді біоенергетичних (вміст аденілових нуклеотидів, глікогену, лактату, пірувату), прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу (вміст МДА, відновленого глутатіону, активності глутатіонпероксидази, СОД), показників та маркерів ішемічного ушкодження серця (АСТ, КФК, NOS), що зіставлялось із позитивними змінами морфологічної картини ішемізованого серця.

На захисну дію ПК-66 в умовах норадреналінової міокардіодистрофії у щурів вказувало зменшення показників летальності, підвищення фізичної витривалості тварин та послаблення дистрофічних та деструктивних змін в ішемізованому серці. Доведено, що кардіопротекторний ефект, певною мірою, обумовлений здатністю ПК-66 нормалізувати показники кардіальної та системної гемодинаміки в умовах гострої ішемії міокарда.

Практичне значення отриманих результатів. Розширено та поглиблено уявлення про фармакодинаміку похідних 4-оксо(аміно)-хіназоліну. Експериментально обґрунтовано доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей 4[4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (сполука ПК-66) на предмет створення на її основі нового кардіопротекторного засобу, конкурентоздатного сучасним аналогам. Встановлення залежності «структура-дія» в ряду похідних 4-оксо(аміно)-хіназоліну сприятиме цілеспрямованому синтезу нових сполук із кардіопротекторним ефектом. Результати проведеного дослідження впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного

університету ім. М. І. Пирогова, Одеського національного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Проведений аналіз літературних джерел обґрунтовує перспективність вивчення кардіопротективних властивостей похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну в умовах ішемічного пошкодження міокарда.

При виконанні дисертаційного дослідження дисертантка використовувала різноманітні методи дослідження, а саме біохімічні, фармакологічні, фізіологічні, гістологічні, методи математичної статистики. Дисертаційна робота Джигалюк О.В. виконана на сучасному технологічному обладнанні з використанням уніфікованих методів дослідження. Висновки які наведені у розділах та загальні висновки ґрунтуються на результатах експериментальних досліджень

Повнота викладення результатів в опублікованих працях та рефераті. Результати досліджень, проведених Джигалюк О.В., її основні наукові положення відображені у 16 наукових працях, з яких 6 статей у фахових журналах та 10 тез доповідей у матеріалах з'їздах та конференціях.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. За аналізом кожного з розділів роботи у відгуку на дисертацію Джигалюк О.В. викладені основні недоліки і мої, як опонента, побажання. Вони, в основному, стосуються недостатньою аргументацією вибору автором експериментальних моделей, деякими недоліками статистичної обробки отриманих даних. Крім того, дисертантом не за усіма показниками, що характеризують різні механізми дії, наведено переваги ПК 66 над препаратами порівняння. Також кардіопротективна дія ПК 66 на різних експериментальних моделях ішемії міокарда досліджуються за різними показниками, що певною мірою, обмежує оцінку терапевтичного ефекту ПК 66 та розкриття його механізму дії. Не приведено у дисертації переконливого обґрунтування вибору препаратів порівняння. Таке зауваження зумовлено, перш за все тим, що автор дисертації моделює ішемію міокарда, водночас, обрані препарати порівняння не застосовуються для лікування ішемічної хвороби серця (деякі – у комплексної терапії). Не зазначено, якими документами регламентоване застосування цих препаратів. Варто зазначити наявність у тексті дисертаційної роботи та автореферату граматичних, стилістичних та технічних помилок.

Зазначені недоліки не нівелюють загальну наукову цінність та практичне значення отриманих Джигалюк О.В. результатів, не спростовують їх та не впливають на висновки.

У рамках дискусії хотілось би отримати відповіді на наступні запитання:

1. Попередніми дослідженнями були встановлені нейротропні властивості похідних 4-оксо (аміно-)хіназоліну (нейропротективна, стреспротективна). Разом з цим, Вами були досліджені їх кардіопротективні ефекти. Як Ви вважаєте це є плейотропні ефекти, або наслідок конкретного механізму дії дослідних сполук.

2. У дисертаційній роботі Вами було наведено вплив найбільш активної сполуки – ПК 66 на морфофункціональний стан кардіоміоцитів. Як Ви вважаєте, який механізм цієї дії? Чи це є результатом прямого впливу ПК 66 на кардіоміоцити (наприклад стабілізуюча дія на мембрану клітини), або опосередкованою?

3. На підставі проведених Вами експериментальних досліджень яким Ви бачите у майбутньому спектр застосування найбільш активної сполуки ПК 66 у кардіологічній практиці?

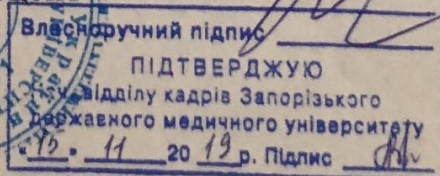
Висновки

Дисертаційна робота Джигалюк Ольги Вікторівни на тему «Кардіопротекторні властивості похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії міокарда» є самостійним, закінченим науковим дослідженням, де наведено експериментально-теоретичне узагальнення та розв'язування наукового завдання, що полягало у встановленні наявності та ступіню кардіопротективного ефекту в ряду похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну в умовах моделювання ішемії міокарда та виявлення сполуки – лідера. За суттю відповідає спеціальності 14.03.05 – фармакологія.

За актуальністю обраної теми, методичним рівнем досліджень та науково-практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота Джигалюк Ольги Вікторівни на тему «Кардіопротекторні властивості похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії міокарда» відповідає п.11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р., №567, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент –

Завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету МОЗ України, доктор біологічних наук, доцент



С.В. Павлов