

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Комнацької Катерини Миколаївни
«Нейропротективні ефекти мелатоніну при контузійній травмі ока
(експериментальне дослідження)», подану до спеціалізованої вченої ради
Д 26.550.01 при Державній установі «Інститут фармакології та токсикології
НАМН України» для захисту на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації. Надзвичайно поширеною загрозою для реалізації зорової функції людини натеper вважається травма ока. В нозологічній структурі первинної інвалідності серед осіб працездатного віку на травматичне ураження органа зору припадає 29%, що виводить дану категорію на друге місце в ряду інших очних хвороб.

Контузія органу зору – найчастіший прояв закритої травми. У рейтингу специфікації очного травматизму контузійні травми органа зору складають 18-23% та за тяжкістю перебігу займають друге місце після проникаючих поранень ока. Постконтузійні зміни очного дна поділяються на ранні (до 2-х місяців після травми) та пізні (більше 2-х місяців). Слід зазначити, що перші посттравматичні 72 години є критичними з точки зору максимізації процесів ішемічного ураження структур ока, в основі яких лежать порушення мікроциркуляції, опосередковані ендотеліальною дисфункцією. Спазм судин як миттєва реакція на травму майже одразу змінюється вазодилатацією, що призводить до зниження швидкості об'ємних та лінійних параметрів кровотоку по центральній артерії сітківки. Останнє призводить до порушень регіонарної мікроциркуляції, наслідком чого є типові патофізіологічні явища, зокрема, стаз, мікротромбоутворення, повнокров'я, венулодилатація, ексудація, набряк тощо. До того ж, запускається патобіохімічний каскад в нейронах гангліозного шару сітківки, які мають нейрогенне походження, у переважній більшості тотожному аналогічним змінам в гіпокампальних нейронах та нейронах кори головного мозку при його ішемічно-гіпоксичному ураженні. Перша реакція на дію альтеруючого чинника в обох випадках –

глутаматна ексайтотоксичність та, опосередкована цим явищем, активація N-метил-D-аспартат (NMDA) – рецепторів. Крім того, у формуванні підґрунтя метаболічних змін, котрі піддаються фармакологічній корекції цитопротекторами, відіграють енергодефіцит та асоційований із ним оксидативний стрес.

Незадовільні результати фармакотерапії пошкоджень зорового аналізатора травматичного генезу, свідченням яких є високі показники інвалідизації пацієнтів, пов'язані із відсутністю дієвих нейропротекторів, спроможних ефективно впливати на всі ланки патобіохімічного каскаду в сітківці та інших структурах ока, морфо-функціональна цілісність яких забезпечує реалізацію зорових функцій і обґрунтовує актуальність вивчення доцільності застосування нейропротектора (мелатоніну) в якості засобу фармакокорекції структурно-функціональних порушень у зоровому аналізаторі за умов його травматичного ураження за умов експерименту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом спільної науково-дослідної роботи Науково-дослідного центру, Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки лікарських засобів та біологічно-активних речовин «Фармадар» та кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України на тему: «Доклінічна оцінка перспективних органопротекторів» (№ ДР 00115U007126) і виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Дисертант є співвиконавцем вказаної тематики НДР.

Основний зміст дисертації та його оцінка. Загальний обсяг дисертації становить 186 сторінок друкованого тексту, з яких 148 сторінок основного тексту. Робота містить анотацію, список друкованих праць, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури (розділ 1), опис матеріалів і методів дослідження (розділ 2), три розділи власних досліджень (розділи 3-5),

узагальнення та обговорення результатів досліджень, бібліографічний показник (248 літературних джерел, з них 94 кирилицею і 154 латиницею) та додатки. Роботу проілюстровано 31 рисунками і 14 таблицями. Отже, структура та обсяг рукопису відповідають чинним вимогам до кандидатських дисертацій.

У *вступі* дисертантка обґрунтовує актуальність теми, формулює мету та 6 підпорядкованих їй завдань, об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів, наводить особистий внесок, відомості щодо апробації отриманих результатів, обсяг та структуру роботи.

В *огляді літератури* (розділ 1) на 21 сторінках розглянуто сучасні дані щодо епідеміології та специфікації травматичних уражень зорового аналізатора, де зазначено частоту очного травматизму за важкістю контузій органу зору. Описані морфо-функціональні зміни та особливості пошкодження структур зорового аналізатора при дії травмуючого агента, де особливу увагу акцентовано на перші посттравматичні 72 години, які характеризуються максимізацією ішемічного ураження структур ока, в основі яких лежать порушення мікроциркуляції, котрі опосередковані ендотеліальною дисфункцією. Дисертанткою приведені дані літератури щодо регуляції судинного тонуусу множинними вазодилататорами та вазоконстрикторами, тому що набряк, ексудація та внутрішньоочний тиск більшою мірою залежить не стільки від тонуусу артеріального коліна мікроциркуляторного русла, скільки від наповнення нормального дренажу (відтоку) крові через його венозний компонент. Також важливим фактором є дані, що в перші години після отримання травми реєструються ознаки раннього некрозу та відбувається активація факторів, які лежать в основі запрограмованої загибелі клітин – апоптозу. Ці дані підтверджені та описані з достатнім посиленням на літературні джерела в підрозділі «Рецепторно-

біохімічні особливості пошкодження сітківки при травматичному ураженні ока».

Наступний етап аналізу літературних даних присвячений теоретичному підґрунтю та можливості сучасної нейропротекції при травматичних ураженнях зорового аналізатора, зокрема, використання метаболокоректорів. В основі метаболокорекції є захист нервової тканини, в т.ч. сітківки та аксонів зорового нерву, від токсичної дії глутамату, продуктів вільнорадикальних процесів окиснення, нормалізації нейронально-гліальної взаємодії, яка попереджає активацію клітин мікроглії, коли ураження не набуло незворотного характеру. Тому актуальним є розробка нових стратегій у комплексній терапії хворих із контузією очного яблука, а саме, фармакологічний супровід. В п'ятому підрозділі літературного огляду розглядаються особливості метаболіотропної спрямованості при травматичних ураженнях органу зору.

У *розділі 2* на 20 сторінках описано матеріали та методи дослідження. Використано 80 кролів-самців породи Шиншила масою 3,5 – 4,0 кг на початку експерименту із дотриманням морально-етичних норм згідно Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», що підтверджено витягом з протоколу №12 від 10.12.2015 р. та протоколу №1 від 31.01.2018 р. В підрозділі 2.1. представлений детальний опис експериментальних тварин, особливості їх харчування та утримання. Далі приводиться характеристика власно розробленої експериментальної моделі контузії ока у кролів. Перелік дослідних засобів включає субстанцію мелатоніну (Sigma Chemical Co., St. St. Louis, США), та референт-препарати: тіотриазолін, цитиколін, корвітин.

В дизайні дослідження зазначено, що на I етапі проводилась розробка та апробація моделі контузії зорового аналізатора (проводились визначення змін активності NSE, змін титрів білка) та на основі отриманих даних визначали класифікацію важкості контузії. На II етапі дослідження

проводилась скринінгова оцінка мелатоніну у різних дозах та встановлення умовно-терапевтичної дози за показниками на активність NSE та BOT.

Наступний етап дослідження дисертантка присвятила аналізу характеристики функціональних механізмів дії мелатоніну за змінами показника BOT та лазерної доплер-флуометричної оцінки мікроциркуляції. Щодо оцінки метаболітотропних клітинних механізмів дії дослідних препаратів проводились дослідження глутаматної ексайтотоксичності, енергетичного метаболізму, балансу монооксиду азоту, оксидативно-антиоксидативного гомеостазу та протоково-цитометричний аналіз. Всі методики є стандартизованими, в розділі 2 приводиться детальний опис з посиланнями на літературні джерела.

Для статистичної обробки дисертантка використовувала параметричний t-критерій Стюдента в разі нормального розподілу варіаційного ряду, непараметричний критерій W Уайта - за його відсутності, парний критерій $\bar{T}$ Вілкоксона – для визначення значущих змін у динаміці всередині групи, кутове перетворення Фішера – при обліку результатів в альтернативній формі. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності $p < 0,05$ (95%).

Далі Комнацька К.М. викладає результати власних досліджень.

Розділ 3 «Скринінг нейропротекторних ефектів мелатоніну при контузійній травмі органа зору» дисертантка присвятила опису відтворення та апробації адаптованої клінічним умовам моделі контузії органу зору у тварин. Запропонована стандартизована модель контузії ока дозволила проводити екстраполяцію отриманих експериментальних даних на відповідну клінічну нозологію у людей та проводити цілеспрямований скринінг нейропротекторних ефектів дослідних засобів. Проведене скринінгове дослідження мелатоніну у дозах 5, 10 та 15 мг/кг, при його використанні за новими призначеннями в умовах експериментальної контузії ока, за показниками активності маркера NSE та BOT, дозволило виявити його

умовно-терапевтичну дозу - 10 мг/кг, придатну для подальшої поглибленої оцінки нейропротекторної дії.

В наступному експериментальному *розділі 4* «Дослідження впливу мелатоніну на цитоархітектонічні особливості формування деструктивних вогнищ у різних структурах зорового аналізатора у гострий постконтузійний період» дисертантка представила результати дослідів щодо протоково-цитометричного аналізу та показала, що 7-денна курсова терапія мелатоніном кролів з контузійною травмою ока, за спроможністю зменшувати відсоток клітин з ознаками фрагментації ДНК, переважає цитиколін на 35,4%, що свідчить про наявність у нього антиапоптичної дії. За умов контузії ока у кролів відсоток ядер в суспензії клітин сітківки, що перебувають у фазі S (нейрогліальна проліферація), на фоні терапії мелатоніном та цитиколіном був вірогідно меншим відносно цього показника у групі контрольної патології в середньому на 54,7% та 18,7% . Встановлена антинейрогліопроліферативна дія мелатоніну за умови МКО, на якій ґрунтується його нейропротекторний ефект.

У *розділі 5* К.М. Комнацька викладає результати дослідження внутрішньоклітинних та функціональних механізмів дії мелатоніну при травматичному ураженні ока. Експериментальна семиденна терапія контузійної травми органу зору у кролів мелатоніном дозою 10 мг/кг вірогідно ліпше референт-препарату корвітин (10 мг/кг) або цитиколін (250 мг/кг), сприяла відповідно зниженню рівня глутамату на 24,4% і 21, 9%, зменшенню вмісту стабільних метаболітів NO на 40,3% та 24,8% при паралельному збільшенні АТФ на 51% і 15,7%, сприяла послабленню процесів оксидативного стресу, на що вказувало вірогідне зменшення рівнів маркерів МДА на 30,1 та 15,7%, КГП на 31,2% та 11,6% на тлі достовірного зростання активності ГПО на 24,4% та 10,4%. За спроможністю нормалізувати внутрішньоретинальний метаболізм мелатонін умовно-терапевтичною дозою 10 мг/кг перевершує корвітин (10 мг/кг) або цитиколін

(250 мг/кг). За даними лазерної доплерівської флоуметрії, курсове застосування мелатоніну, цитиколіну, корвітину та тіотриазоліну стабілізувало стрімке погіршення кровопостачання, проте, за ступенем покращення перфузії, вони мали між собою вірогідну різницю. За показником мікроциркуляції, мелатонін достовірно перевершував найбільш активний препарат-порівняння корвітин на 1-шу, 4-ту та 7-му добу в середньому на 18,5%, 52% та 36,7%. Слід відмітити, що саме у критичний період (4-та доба) відмічалась максимальна різниця в ефективності мелатоніну над корвітином. Отже, покращення перфузії ока в умовах його контузії на тлі застосування мелатоніну – один із провідних механізмів в реалізації його нейропротекції.

У розділі *«Узагальнення та обговорення результатів досліджень»* дисертантка досить глибоко аналізує та узагальнює отримані результати дослідження, підсумовує і порівнює їх з даними літератури, логічно підводить підсумок проведених досліджень і обґрунтовує висновки роботи. Результати експериментально обґрунтовують доцільність застосування мелатоніну в терапії тупих травм ока, створення його нової лікарської форми з метою впровадження в офтальмологічну практику за новим призначення, а саме, як нейропротектора при контузійній травмі органу зору.

Робота завершується **7 висновками**, в яких Комнацька К.М. логічно узагальнює фактичні результати. Висновки відповідають меті і завданням дослідження, викладені стисло, конкретно. Відносним недоліком можна вважати відсутність у висновках відомостей про дози референт-препаратів.

Список використаних джерел наведено в алфавітному порядку на 33 сторінках, оформлено за чинними вимогами, містить 248 літературних джерела, з них 94 кирилицею і 154 латиницею, при цьому 64% цитованих робіт датовано останніми 10 роками, що підкреслює обізнаність авторки щодо сучасного стану цієї наукової проблеми.

Наукова новизна результатів дисертаційної роботи не викликає сумнівів. Дисертантка переконливо довела, що механізми нейропротекторної дії мелатоніну при контузії органу зору реалізуються за рахунок зменшення в крові активності нейрон-специфічної енолази та рівня білку S 100, зменшення маркеру апоптозу в сітківці, ендотелію рогівки та епітелію кришталика, зменшення маркеру нейрогліальної проліферації, зниження в сітківці рівня карбонільних груп протеїнів, малонового діальдегіду, нітритів та нітратів, глутамату та підвищення рівня АТФ і глутатіонпероксидази, підвищення зниженого показника внутрішньоочного тиску та відновлення циліарної перфузії на мікроциркуляторному рівні. Доповнено наукові дані про механізми дії мелатоніну, які ґрунтуються на перериванні АФК-залежних механізмів вазоконстрикції та нейродеструкції.

Таким чином, рецензована робота вносить вагомий вклад у розв'язання задачі доцільності застосування мелатоніну в якості засобу фармакологічної корекції структурно-функціональних порушень у зоровому аналізаторі за умов травматичного ураження.

Теоретичне та практичне значення роботи полягає в тому, що результати дозволяють розширити уявлення щодо підвищення ефективності лікування контузійної травми органу зору шляхом застосування за новими призначенням метаболітотропних цито-(органо) протекторів (мелатоніну, цитиколіну, корвітину, тіотриазоліну).

Результати експериментально обґрунтовують доцільність застосування мелатоніну в терапії контузії зорового аналізатора, створення його нової лікарської форми, з метою впровадження препарату в практичну систему охорони здоров'я за новим призначенням, а саме як нейропротектора при контузійній травмі органу зору, та внесення змін по розширенню показів до його застосування в офтальмологічній практиці.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, які сформульовані у дисертації. Наукові положення

дисертаційної роботи Катерини Миколаївни Комнацької мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості експериментів, коректній математичній і статистичній обробці та професійній інтерпретації результатів.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і в авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових робіт, які повністю відображають зміст роботи і отримані результати, з них 6 статей опубліковано в рекомендованих ДАК МОН України наукових фахових виданнях (з яких 3 входять до переліку міжнародних наукометричних баз), 2 патенти України на корисну модель, 6 робіт опубліковано в матеріалах і тезах науково-практичних конференцій та конгресів. Автореферат відповідає дисертації за змістом і структурою.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту й оформлення. Тексти дисертації та автореферату викладено українською мовою із дотриманням наукового стилю. Оформлення дисертації та автореферату в цілому відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, ілюстрації, посилань на літературні джерела.

Зауваження:

1. Необхідно впровадити результати Ваших досліджень в практичну діяльність лікарів офтальмологів у вигляді Інформаційного листа, що підвищить практичну значимість отриманих результатів.
2. В авторефераті в таблиці №4 необхідно було вказати дані щодо показників мікроциркуляторних змін у судинах циліарного тіла у інтактних кролів.
3. У тексті дисертації зустрічаються поодинокі не виправлені мовні неточності та помилки.

Запитання:

1. Чи є в Вашій клінічній практиці наявними результати ефективного використання мелатоніну у пацієнтів з травмами ока контузійного характеру? Як Ви можете описати динаміку одужання?
2. Чим пояснюється різноступеність нейроретинопротекторної активності мелатоніну, цитиколіну, корвітину та тіотриазоліну за умов експериментальної контузії ока?
3. Чи є, на Вашу думку, доцільним комбіноване призначення мелатоніну з іншими засобами нейроретинопротекторної дії у пацієнтів з травмами ока контузійного характеру?

Дані зауваження і запитання не зменшують досить високу оцінку дисертації К.М. Комнацької, у якій наведено важливі для фармакології та сучасної офтальмології результати, а висновки відповідають задачам дослідження.

Висновок. Дисертація Комнацької Катерини Миколаївни «Нейропротективні ефекти мелатоніну при контузійній травмі ока (експериментальне дослідження)» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 (фармакологія) є закінченою, самостійною кваліфікаційною науково-дослідною роботою. Робота актуальна, виконана на сучасному методичному рівні з достатньою кількістю досліджень з використання адекватних експериментальних моделей зі статистичною обробкою, що дозволило авторці зробити об'єктивні висновки.

На основі вище зазначеного вважаю, що дисертаційна робота «Нейропротективні ефекти мелатоніну при контузійній травмі ока (експериментальне дослідження)» за спеціальністю 14.03.05- фармакологія відповідає вимогам п.11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24.03.2013 щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а

дисертант заслуговує присвоєння наукового ступеня за спеціальністю –
14.03.05 – фармакологія.

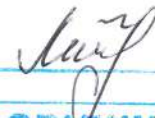
Професор кафедри соціальної медицини,
організації та управління
охороною здоров'я

ДЗ «Дніпропетровська медична
академія МОЗ України»

доктор медичних наук, доцент

Підпис д.м.н., доцента О.В. Макаренка засвідчую

Вчений секретар, д.м.н., доцент



О.В. Макаренко



Н.М. Онул