ВІДГУК

на дисертаційну роботу Терещенка Сергія Васильовича: «ЕНДОТЕЛІОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ ЦИТОКІНОВИХ ПРЕПАРАТІВ ІНТЕРЛЕЙКІНОВОГО РЯДУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ», подану на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія

Актуальність теми дисертації

У хворих на цукровий діабет (ЦД) 1 та 2 типу судинні захворювання займають значне місце в структурі смертності та супутніх ускладнень. При ЦД 1 типу уражається мікро- і макроциркуляторне русло. Мікроангіопатія при ЦД призводить до розвитку ретино- і нефропатії, макроангіопатія - до прискореного розвитку атеросклерозу з ураженням судин серця, головного мозку і периферичних судин. У патогенезі мікросудинних ускладнень грають роль метаболічні, гемодинамічні і генетичні чинники. Згідно метаболічної теорії, причиною змін є тривало існуюча гіперглікемія та пов'язані з нею порушення: неферментне глікозилювання білків, поліоловий шлях обміну глюкози, пряма глюкозотоксичність, порушений синтез глікозаміногліканів. Гемодинамічна теорія пояснює формування склеротичних змін в нирках порушенням внутрішньониркової гемодинаміки (розвиток внутрішньоклубочкової гіпертензії і гіперфільтрації).

Атеросклероз у хворих на ЦД розвивається внаслідок ряду причин, серед яких велике значення мають взаємодії між гіперглікемією, гіперліпідемією, оксидантним стресом, гиперін-сулінемією і гіперпроінсулінемією, зміни в системах коагуляції і фібринолізу. В останні роки дедалі більшу увагу при вивченні причин розвитку і прогресування атеросклеротичного процесу приділяється функції ендотеліальних клітин, і в ряді досліджень показано, що їх дисфункція може відображати дуже ранні зміни, що ведуть до розвитку атеросклерозу при ЦД. Результати досліджень останнього десятиліття минулого століття, що з'явилися в пресі, зривають завісу таємничості над причиною формування судинних порушень при ЦД і

демонструють, що в патогенезі діабетичної енцефалопатії пусковою ланкою є активація поліолового шляху окислення глюкози під впливом ферменту альдозоредуктази. В результаті цього глюкоза під впливом альдозоредуктази перетворюється в сорбітол, що призводить до виснаження NADPH і, в подальшому, до виснаження глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи, зниження експресії ендотеліальної NO-синтази, необхідної для синтезу NO. Особлива роль у формуванні судинних ускладнень при ЦД належить активації протеїнкінази С, а в подальшому до збільшення концентрації ендотеліну-1 і продукції факторів росту: епідермального ростового фактора EGF і трансформованого ростового фактора TGF-β, на тлі придушення експресії судинного ендотеліального фактора росту VEGF, що грає також роль ендогенного нейропротектора.

Також при гіперглікемії відбувається підвищене включення глюкози в гексозамінний шлях, в результаті чого збільшується експресія генів прозапальних цитокінів - TNF-1a IL-1b. Саме через активацію рецептора IL-1b відбувається активація iNOS і гіперпродукція активних форм кисню і NO. В даний час оксидативний і нітрозуючий стреси розглядаються як універсальний механізм розвитку всіх ускладнень при ЦД, в тому числі нейродеструкції і порушення функції ендотелію. IL-1b відводять роль і специфічного агента на рівні з АФК, що пригнічує і активність, і експресію ендотеліальної синтази монооксиду азоту - eNOS. При ЦД порушуються ендогенні механізми, що регулюють співвідношення експресії eNOS / iNOS. Так, деривати тіол-дисульфідної системи - глутатіон і цистеїн, не тільки забезпечують біодоступність NO, а й обмежують експресію iNOS і переривають АФК-залежні механізми депривації активності eNOS.

Крім того, глутатіон і цістенін здатні значно обмежувати цитотоксичність нітрозуючого стресу, збільшуючи шанс клітини вижити. В умовах ЦД в головному мозку експериментальних тварин і в еритроцитах і плазмі крові пацієнтів встановлено значний дефіцит глутатіону на тлі пригнічення активності глутатіон-залежних ферментів. Дефіцит глутатіону

активізує ще один механізм, який бере участь у формуванні діабетичної нейродеструкції і дисфункції ендотелію при ЦД. Так, дефіцит відновленого глутатіону призводить до придушення найбільш відомого нейро- і цитопротектора - HSP70, а паралельне збільшення концентрації окисленого глутатіону призводить до активації FAS-залежних шляхів апопотозу.

Важливим напрямом специфічної терапії діабетичної енцефалопатії є ендотеліопротекція. Ендотеліопротективна терапія на сучасному етапі є складною і варіабельною, оскільки відображає різноманітність механізмів пошкодження судин головного мозку при ЦД та тісно пов'язана з нейропротекцією. Ґрунтуючись на багатокомпонентності каскадних реакцій ушкодження ендотелію судин головного мозку та формуванні ендотеліальної дисфункції при ЦД – IL-1b- залежній гіперпродукції активних форм кисню і NO, порушенні співвідношення eNOS/iNOS на тлі дефіциту глутатіону, ініціації нейроапоптозу, при лікуванні діабетичної енцефалопатії слід звертати особливу увагу на модулятори IL-1b як потенціальні ендотеліопротектори. Таким чином, актуальність даної роботи на сучасному етапі безсумнівна і обумовлена, в першу чергу, відсутністю в арсеналі сучасного лікаря високоефективного і малотоксичного препарату ендотеліопротективної дії. Великий практичний інтерес може представляти комплексне лікування ендотеліальної дисфункції при діабетичній енцефалопатії, коли базова терапія буде поєднуватися із застосуванням інших препаратів-коректорів порушень функцій ендотелію. У зв'язку з вищевикладеним та ґрунтуючись на багатокомпонентності каскадних реакцій уражень ендотелію судин головного мозку та формуванні ендотеліальної дисфункціїї при ЦД – IL-1b- залежній гіперпродукції активних форм кисню і NO, порушенні спідвідношення eNOS/iNOS на тлі дефициту глутатіону, ініціації нейроапоптозу, при лікуванні діабетичної енцефалопатії слід звертати особливу увагу на модулятори IL-1b- а саме – на рецепторний антагоніст IL (РАІЛ-1) та інтерлейкін-2 (IL -2) як на потенційні ендотеліопротектори. Таким чином, актуальність даної роботи на сучасному

В результаті проведених досліджень отримані переконливі дані про високий терапевтичний потенціал нового підходу до ендотеліо- та нейропротекції при діабетичній енцефалопатії з використанням таргетних препаратів – рецепторного антагоністу інтерлейкіну-1 (РАІЛ-1) та інтерлейкіну-2 (ІЛ-2), що відкриває широкі можливості для впровадження в медичну практику запропонованого способу, спрямованого на переривання IL-1b -залежних механізмів ендотеліальної дисфункції в умовах церебральної ішемії при цукровому діабеті.

Наведені методики є загальноприйнятими в рамках поставлених завдань, в достатній мірі відображають високий рівень досліджень. Проаналізовано і зреферовано велику кількість наукової літератури та медичних джерел - 349 найменування, з них 177 - кирилицею, 172 - латиницею. Дисертація ілюстрована 20 таблицями та 13 рисунками.

У роботі використано достатню кількість для достовірного аналізу лабораторних тварин (485 білих безпородних щурів обох статей, масою 170-220 г). Переконливі результати з адекватним використанням методів статистичної обробки (кореляційний, дисперсійний, регресійний аналізи, бінарна логістична регресія) зумовили високу статистичну значущість, на основі яких дисертант обґрунтував положення, висновки та практичні рекомендації.

Все це однозначно свідчить, що висунуті автором наукові положення і висновки досить обґрунтовані, достовірні, випливають з проаналізованого фактичного матеріалу, правильно оформлені та чітко сформульовані. Практичні рекомендації прості та конкретні.

Наукова новизна отриманих результатів

Дисертаційна робота Терещенко С.В. являє собою дослідження, в якому вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено використання як ендотеліо- та нейропротекторів модуляторів цітокінів - РАІЛ-1 та ІЛ-2 в умовах цукрового діабету та встановлено їх перевагу перед тіоцетамом, мексидолом, мілдронатом, кортексином. Вперше встановлено

механізм ендотеліопротективної дії РАІЛ-1 та ІЛ-2, який полягає у підвищеній експресії VEGF ендотеліальних клітин капілярів кори та стінки судин головного мозку та у блокуванні токсичних проявів нітрозилюючого та оксидантного стресів. Вперше за допомогою системного аналізу доведено, що ендотеліопротекторна дія Ронколейкіну пов'язана зі впливом на ступінь зв'язування VEGF з ендотелієм судин мозку та капілярної мережі, активізацією глутатіонредуктази та NOS, що призводить до стабілізації рівнів відновлених тіолів і глутатіону на тлі зниження рівнів окислених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи, нормалізує енергетично-вуглеводний метаболізм та гальмує апоптоз. Вперше доведено, що ендотеліопротекторна дія РАІЛ-1 здійснюється шляхом стабілізації вмісту РНК та системної експресії VEGF в ендотеліоцитах, рівнів відновлених тіолів і глутатіону шляхом активізації глутатіонпероксидази, що призводить до зниження рівнів окислених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи і нітротирозіну та нормалізації енергетично-вуглеводного метаболізму. Вперше показано, що серед оригінальних параметрів ендотеліальної дисфункції – індекс реактивності капілярів (ІРК), індекс реактивності судин головного мозку (ІРС), коефіцієнт ендотеліальної чутливості (КЕЧ) та метаболічний коефіцієнт (МК) – максимальне значення усередненого показника системоутворення виявив індекс реактивності судин головного мозку, який характеризує потенційну здатність до стабілізації стану ендотелію судин головного мозку в умовах ушкоджуючої дії гіперглікемії та який може використовуватися як ранній маркер ендотеліальної дисфункції в тканинах головного мозку при ЦД та як інтегральний показник адаптивних можливостей ендотелію.

Важливість для науки і практики отриманих автором результатів

Практична значущість роботи визначається тим, що вперше експериментально доведено та продемонстровано високий терапевтичний потенціал нового підходу до ендотеліо-та нейропротекції при діабетичній енцефалопатії з використанням таргетних препаратів – рецепторного

антагоністу інтерлейкіну-1 та ронколейкіну, що відкриває широкі можливості для впровадження в медичну практику запропонованого способу, спрямованого на переривання цитокін-залежних механізмів ендотеліальної дисфункції в умовах церебральної ішемії при ЦД. Згідно з результатами отриманих досліджень спосіб цитокінової ендотелійпротективної нейропротекції з використанням інтерлейкінових препаратів може становити безсумнівний інтерес для практичного застосування з метою профілактики та лікування неврологічних ускладнень цукрового діабету. Результати проведених досліджень впроваджено в план наукових досліджень кафедр фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки Дніпропетровської державної медичної академії, кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ, кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського державного медичного університету, кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакології Національного медичного університету ім. О.Богомольця, а також в науковий процес відділу Гострих захворювань судин Інституту загальної та невідкладної хірургії ім. проф. В.Т. Зайцева АМН України (Харків).

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах

Говорячи про повноту викладення матеріалів дисертаційної роботи в опублікованих наукових працях, необхідно відзначити, що автором за матеріалами дисертації опубліковано 24 наукові роботи, із них 3 монографії (у співавторстві), 6 статей у фахових виданнях в галузі медицини, рекомендованих МОН України, 2 статті в іноземних журналах з напрямку дисертації, 12 тез доповідей на наукових конференціях та з'їздах.

Всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації знайшли своє відображення у друкованих роботах. Аналіз основного змісту опублікованих робіт дозволяє зробити висновок, що всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації, представлені в дисертації, відображені в опублікованих працях.

Рекомендації щодо використання результатів та висновків

Дані досліджень, отримані у рамках виконання дисертаційної роботи, можуть бути використані в науковій, навчальній та лікувальній роботах науково-дослідних установ і медичних ВНЗів та інших медичних закладах.

Обсяг і структура дисертації

Оцінюючи зміст дисертації, слід зазначити, що робота легко читається і сприймається, виклад основних результатів дослідження компактний та конкретний. Робота побудована в традиційному стилі та складається з вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, обговорення результатів дослідження - заключення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, яка включає 349 найменування, з них 177 - кирилицею, 172 - латиницею. Дисертація ілюстрована 20 таблицями та 13 рисунками. Огляд літератури докладний і структурований, автором чітко охарактеризовані невивчені на сьогоднішній день або сумнівні аспекти, що стосуються патогенезу ангіопатій при цукровому діабеті. Показано механізми формування ендотеліальної дисфункції при цукровому діабеті. Показано, що в патогенезі ендотеліальної дисфункції при ЦД пусковою ланкою є гіперглікемія. В результаті активації протеїнкінази С відбувається збільшення концентрації ендотеліну-1 і продукції факторів росту: судинного ендотеліального фактору росту VEGF, епідермального ростового фактору EGF і трансформованого ростового фактору TGF-β. Також при гіперглікемії відбувається підвищене включення глюкози в гексозамінний путь, внаслідок чого збільшується транскрипція генів запальних цитокинів, що також робить свій внесок у формування судинного запалення і проатерогенного стану. В даний час оксидативний стрес розглядається як основний універсальний механізм розвитку усіх ускладнень при ЦД. Більш того, оксидативний стрес, що індукується гіперглікемією, запускає реакції пошкодження білкових структур іонних каналів і рецепторів, а також активування і фосфорилювання цитозольної фосфоліпази A_2($cPLA_2$) із збільшенням утворення арахідонату і

простагландину E_2, які призводять до зміни проникності судинної стінки і тромбоутворенню. В результаті оксидативного стресу відбувається пошкодження ДНК - обов'язковий стимул для активації нуклеарного ферменту полі(АДФ-рібози) - полімерази, що виснажує внутрішньоклітинну концентрацію NAD+, знижуючи рівень гліколізу, уповільнюючи транспорт електронів і утворення АТФ, блокує активність гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази, що приводить до ендотеліальної дисфункції і розвитку діабетичних ускладнень. В обзоре наведено дані, що на даний час розробляються підходи до патогенетичного лікування діабетичної дисфункції ендотелію, яке включає заходи, спрямовані на досягнення і підтримку стійкої компенсації ЦД, з використанням лікарських засобів – інгібіторів альдоредуктази, вітамінів групи В - інгібіторів гліколізу, які блокують глюкотоксичний ефект і формування кінцевих продуктів глікозилювання, ендотеліопротекторів, мітопротекторів, антиоксидантів. Аналізуючи відомості, що є в літературі, Автор робить висновок, що проблема лікування хворих з цереброваскулярними ушкодженнями в цілому та зокрема гострих порушень мозкового кровообігу (ішемічний інсульт) як прояв діабетичних макроангіопатій та ЕД при цукровому діабеті, є актуальною, оскільки це є потенційно небезпечні стани з досить тяжким клінічним перебігом, високим ризиком виникнення ускладнень та супутніх патологій. Це зумовлено високими показниками розповсюдженості та летальності, зазначені стани характеризуються тривалою непрацездатністю, стійкою інвалідизацією хворих з погіршенням їх загального стану. В огляді літератури Автор приводить данні щодо терапевтичної оцінки відомих лікарських засобів, що використовуються у комплексної терапії діабетичної енцефалопатії - тіоцетаму, кортексину, мексидолу. Теоретично обґрунтовується перспективність модуляторів цитокінового профілю як ефективних ендотеліо- та нейропротекторів. У розділі «матеріали і методи дослідження» автором приведений дизайн дослідження, вказані вид лабораторних тварин (білі безпородні щурі), джерело їх отримання, умови утримання.

Охарактеризовані експериментальні моделі цукрового діабету. У роботі використовувалась найбільш адекватна клінічним проявам цукрового діабету модель, яка полягає у введенні тваринам алоксану. Ця модель цукрового діабету дозволяє відтворити не тільки реалізацію клітинно-молекулярно-патобіохімічного каскаду нейродеструкції, характерного для діабетичної енцефалопатії в клініці, але і прояви дисфункції ендотелію у лабораторних тварин. Дисертантом розроблено підхід в декілька етапів до оцінки ендотеліо- та нейропротективної дії відібраних препаратів - РАІЛ-1 та ІЛ-2 та референт-препаратів, що дозволило об'єктивно оцінити їх вплив на основні показники ендотеліальної дисфункції. В роботі використовували сучасні фармакологічні, біохімічні, імуногістохімічні, морфометричні та статистичні методики. Оцінку ендопротективної дії РАІЛ-1 та ІЛ-2 проводили згідно методичних рекомендацій ДЄЦ МОЗ України. В третій главі Автором встановлено, що моделювання алоксан-індукованого цукрового діабету у білих безпородних щурів призводило до формування ендотеліальної дисфункції капілярної мережі IV-V шарів кори і судин судинної оболонки мозку, судинного сплетення шлуночків мозку, гілок центральної мозкової і очної артерій (зниження середнього діаметру, площі та щільності ядер ендотеліоцитів, зменшення в них концентрації РНК та VEGF). Доведено, що Ронколейкін та РАІЛ мають ендотеліопротекторну дію. Курсове введення Ронколейкіну та РАІЛ-1 попереджало розвиток ендотеліальної дисфункції в мозку щурів з ЕАЦД, а саме призвело до підвищення щільності ядер ендотеліоцитів капілярної мережі кори і судинної стінки судин головного мозку, підвищення пулу РНК і активації трансляційної активності клітин відносно VEGF. Більш виразною визнано ендотеліопротективну дію РАІЛ-1 (за впливом на середній діаметр, щільність ядер та концентрацію VEGF ендотеліальних клітин капілярів кори та стінки судин головного мозку, вміст РНК ендотеліоцитів капілярів) та Ронколейкіну (за впливом на площу ядер ендотеліоцитів та вміст РНК ендотеліоцитів стінки судин головного мозку). Доведено, що показник ІРК максимально

знизився в групах Кортексину (на 41%) та РАІЛ-1 (на 37%), показник ІРК – в групах РАІЛ-1 (на 70%), Кортексину (на 65%) та Ронколейкіну (60%), що віддзеркалює активні зміни стану ендотелію капілярів та судин головного мозку щурів з експериментальною гіперглікемією на тлі зменшення ступеня зв'язування ендотеліального фактору росту. Максимальне підвищення показнику КЕЧ відзначено в групі Ронколейкіну (на 118%), Мексидолу (на 112%) та РАІЛ-1 (на 110%), що відображає вплив на співвідношення експресії проективного VEGF в ендотеліоцитах капілярів та судин головного мозку щурів з експериментальною гіперглікемією. У четвертої главі Автором встановлено, що цереброваскулярні порушення та нейродеструктивні зміни тканин мозку на моделі алоксаніндукованого ЦД характеризувались такими проявами нітрозилюючого стресу, як виразний дисбаланс активності NO-синтаз (різке зростання експресії індуцибельної NO-синтази та зменшення активності ендотеліальної NO-синтази, а також зміни співвідношення eNOS/iNOS), порушення транспорту NO (зниження вмісту тіолвміщуючих амінокислот цистеіну та метіонину) та його метаболізму (зростання концентрації нейротоксичного гомоцистеіну). Встановлено, що розвиток алоксанового діабету з формуванням постгіпоксічних змін тканин головного мозку щурів супроводжувався збільшенням в гомогенаті мозку маркерів оксидантного стресу (АФГ, КФГ та нітротирозину) та дискордантними зміщеннями компонентів тіол-дисульфідної системи (підвищення рівнів окислених форм глутатіону і тіолів на тлі різкого зниження їх відновлених форм та зниження активності ферментів ГР і ГПР). Порівняльний аналіз активності Тіоцетаму, Мілдронату, Мексидолу, Кортексину, Ронколейкіну та РАІЛ-1 довів, що їх курсове введення тваринам з експериментальним ЦД сприяло стабілізації активності системи оксиду (зростання активності ендотеліальної NO-синтази на тлі зниження активності iNOS, збільшення вмісту тіолвміщуючих амінокислот та зниження рівнів гомоцистеіну) та оксидантного стресу (стабілізація рівнів ОМБ та НТЗ), відновленню тіол-дисульфідної рівноваги (зниження рівнів окислених форм глутатіону і тіолів,

підвищення рівнів їх відновлених форм та активності ферментів ТДС). Встановлено, що максимальне блокування токсичних проявів нітрозилюючого та оксидантного стресів (вплив на активність eNOS, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, на рівні нейротоксичного НТЗ, та відновлених форм глутатіону) відзначено у РАІЛ-1 та Ронколейкіну.

В п'ятій главі Терещенко С.В. продемонстрував, що цереброваскулярні порушення та формування ендотеліальної дисфункції тканин мозку на моделі експериментального ЦД характеризувались енергетичним дефіцитом (зниження синтезу макроергічних фосфатів та показників енергозабезпечення – ІФ та ТдКД) та порушеннями вуглеводного обміну (формування лактат-ацидозу), що супроводжувались негативними змінами функціонального стану клітин головного мозку (зниження показників щільності та площин тіл нейронів, вмісту в них РНК) та активізацією процесів апоптозу (збільшення частки апоптотичних клітин). Вперше порівняльний аналіз впливу Тіоцетаму, Мілдронату, Мексидолу, Кортексину, Ронколейкіну та РАІЛ-1 на відновлення енергозабезпечення тканин мозку на моделі ЦД виявив, що більш ефективна корекція рівнів АТФ, АДФ та АМФ встановлена в групах РАІЛ-1 та Ронколейкіну. Визначено, що експериментальна терапія Тіоцетамом, Мілдронатом, Мексидолом, Кортексином, Ронколейкіном та РАІЛ-1 сприяла нормалізації вуглеводного обміну в клітинах головного мозку щурів – підвищенню рівнів піруват, малату та ізоцитрату на тлі зниження вмісту лактату, що попереджає розвиток лактат-ацидозу та негативні зміни ендотеліоцитів. Максимальне блокування розвитку ендотеліальної дисфункції шляхом стабілізації вуглеводно-енергетичного забезпечення ендотеліоцитів капілярів та стінки судин головного мозку встановлено у Кортексину, Ронколейкіну та РАІЛ-1. Вперше доведено, що в умовах експериментальної гіперглікемії терапія Тіоцетамом, Мілдронатом, Мексидолом, Кортексином, Ронколейкіном та РАІЛ-1 на виразність негативних змін функціонального стану клітин головного мозку мала максимальний ефект в групі Ронколейкіну

(нормалізація щільності нейронів) та РАІЛ-1 (стабілізація площі тіл нейронів та активності синтезу РНК в них, зниження показників щільності апоптотичних та деструктивно-змінених нейронів в складі клітин головного мозку). Максимальний вплив на оригінальний показник метаболічного коефіцієнту (МК) відзначено в групі Кортексину, Ронколейкіну та РАІЛ-1, що відображає їх стабілізуючий вплив на рівні РНК та АТФ в ендотеліоцитах капілярів і судин мозку та нейронах головного мозку. У шостій главі приведено, що при ішемічному ураженні тканин мозку на моделі алоксан-індукованого діабету у щурів відзначено формування дисфункції ендотелію, активацію вільно-радикальних процесів, а саме окисної модифікації білків, зрушення рівноваги ТДС за рахунок значного зниження активності ензимів ТДС (ГР і ГП) та її відновлених інтермедіатів на тлі зростання окислених форм. Аналіз кореляційних показників дозволяє зробити висновок, що в умовах експериментального ЦД всі досліджені препарати різною мірою впливали на відновлення функціонального стану мікроциркуляторного русла головного мозку експериментальних тварин. За силою ендотеліопротективної дії, а саме нормалізації параметрів ендотелію та інгібування активності вільно-радикальних процесів, РАІЛ-1 та ІЛ-2 вірогідно перевершили референс-препарати. Ендотеліопротекторна дія Ронколейкіну пов'язана зі впливом на ступінь зв'язування VEGF з ендотелієм судин мозку та капілярної мережі, активізацією ензимів ТДС (переважно ГР) та NO-синтаз, що призводить до стабілізації рівнів відновлених тіолів і глутатіону на тлі зниження рівнів окислених інтермедіатів ТДС, нормалізує енергетично-вуглеводной метаболізм і процеси апоптозу, блокує прояви нейротоксичності. Ендотеліопротекторна дія РАІЛ-1 здійснюється шляхом стабілізації вмісту РНК та системної експресії VEGF в ендотеліоцитах, рівнів відновлених тіолів і глутатіону шляхом активізації ензимів ТДС (переважно ГПР) та активності індуцибельної NO-синтази, що призводить до зниження рівнів окислених інтермедіатів ТДС та маркерів нейротоксичності (НТЗ,

Gcis), нормалізації енергетично-вуглеводного метаболізму та процесів апоптозу.

Системний аналіз оригінальних параметрів ендотеліальної дисфункції – індекс реактивності капілярів (ІРК), індекс реактивності судин головного мозку (ІРС), коефіцієнт ендотеліальної чутливості (КЕЧ) та метаболічний коефіцієнт (МК) – свідчить, що максимальне значення усередненого показника системоутворення виявив індекс реактивності судин головного мозку ІРС, який характеризує потенційну здатність до стабілізації стану ендотелію судин головного мозку в умовах ушкоджуючої дії гіперглікемії. Як системоутворюючі показники всі запропоновані коефіцієнти перевищують за значимістю стандартний показник співвідношення eNOS/iNOS та можуть використовуватися як ранні маркери ендотеліальної дисфункції в тканинах головного мозку при ЦД та як інтегральні показники адаптивних можливостей ендотелію.

Застосований метод статистичного аналізу дав змогу правильно інтерпретувати експериментальні дані і зробити обґрунтовані висновки.

Таблиці та рисунки, які є в дисертації, логічно доповнюють її основний зміст. Достатня кількість використаних літературних джерел, глибина їх аналізу та вміле їх використання при написанні дисертації свідчать про хорошу орієнтованість автора в проблемах, вирішенню яких присвячена робота.

Висновки дисертації логічно випливають з результатів дослідження і повністю відповідають положенням, які були сформульовані в меті та завданні дослідження. Фактичний матеріал добре систематизовано. Робота написана чіткою науково-літературною мовою, список літератури складається, головним чином, із сучасних наукових джерел.

Зауваження:

1. Автором в літературному обзорі і в розділі «Обговорення результатів» достатньо детально описується зловісна роль у формуванні ендотеліальної дисфункції кінцевих продуктів поліолового шунта

глюкози - сорбітолу, сорбітолдегідрогенази, альдоредуктази, диацилгліцеролу (активатора експресії EPCR), метилгліоксаля (альдегиду пірувата) і продукти реакції Маяра (2-ацетил-1-пірролин). Однак, жодний з них не був визначений в крові і головному мозку тварин з ЦД.

2. Не визначалась маса тіла тварин на цій моделі діабету в динаміці и вплив пропонованої терапії на цей важливий показник.
3. Не проведено розрахунок виживаності тварин за методом Каплана-Мейєра з розрахунком кумулятивного критерію виживання всередині групи.
4. Препарати, що вивчались, позиціонуються як перспективні ендотеліопротектори. Однак, із специфічних молекулярних маркерів (EPCR,Tie-2), автор визначав тільки VEGF.
5. У розділі «Матеріали і методи» відсутній підрозділ, який схематично або текстово відображав би дизайн дослідження.
6. Не обґрунтована тривалість експериментальної терапії.

Ці зауваження і побажання не є принциповими, не впливають на загальну високу оцінку рецензованої роботи та загальну позитивну оцінку дисертації, а також не зменшують її високу наукову і практичну значимість.

У рамках дискусії хотілося б отримати відповіді на такі питання:

1. Вашим вчителем професором Супрун Е.В. було розроблено нову концепцію нейропротекції – переривання IL-1b – залежних механізмів відтермінованих механізмів загибелі нейронів. Як Ви вважаєте, на яку ланку-мішень формування ендотеліальної дисфункції будуть спрямовані механізми дії РАІЛ-1 та ІЛ-2? Чи є відмінності формування ендотеліальної дисфункції при церебральній ішемії і при ЦД?
2. В своєму дослідженні Ви отримали переконливі результати про вплив РАІЛ-1 та ІЛ-2 на енергетичний обмін, який за силою перевищує вплив метаболітотропних препаратів - Тіоцетаму, Мексидолу і Мілдронату. Поясніть механізм взаємозв'язку між нормалізацією цитокінового

профілю під впливом РАІЛ-1 та ІЛ-2 і покращенням енергетичного обміну.

3. В нормі IL-1b в головному мозку і, особливо, у гіпокампі, бере участь у формуванні короткочасної і довготривалої пам'яті, регулюванні настрою, формуванні сновидінь. Чи не призведе довготривала депривація IL-1b до посттерапевтичної когнітивної або психо-емоціональної дисфункції?

Висновки

Дисертація Терещенка Сергія Васильовича: «Ендотеліотропні властивості цитокінових препаратів інтерлейкінового ряду за умов експериментального цукрового діабету», є самостійним, закінченим науковим дослідженням, в якому сформульовано і обґрунтовано наукові положення, сукупність яких можна кваліфікувати як нове розв'язання важливого наукового завдання. За актуальністю, об'ємом, використанням методів досліджень, новизною отриманих даних дисертація відповідає вимогам п. 11 Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а дисертант заслуговує присвоєння шуканого ступеня за спеціальністю - 14.03.05 – фармакологія.

Завідувач кафедри фармакології та
медичної рецептури Запорізького державного
медичного університету,
професор І.Ф. Бєленічев

ПІДТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
_____ 20____ р. Підпис