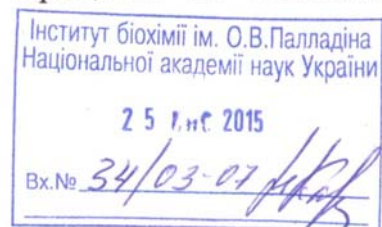


ВІДГУК

офіційного опонента Кучменко Олени Борисівни,
доктора біологічних наук, професора, провідного наукового співробітника
лабораторії молекулярної біохімії ДУ «Національний науковий центр
«Інститут кардіології ім. акад. М.Д.Стражеска» НАМН України
на дисертаційну роботу Хоменко Анни Вікторівни
«Метаболізм та регуляторна роль вітаміну D₃ за глюкокортикоїд-
індукованого остеопорозу», подану на здобуття ступеня
кандидата біологічних наук до спеціалізованої вченої ради Д 26.240.01
при Інституті біохімії ім. О.В.Палладіна НАН України за спеціальністю
03.00.04 - біохімія

Актуальність теми. Актуальність обраної дисертантом теми не викликає сумнівів, оскільки глюкокортикоїдні препарати завдяки своїй потужній протизапальній дії досить широко застосовуються за різноманітних захворювань в терапевтичній практиці. Проте їх застосування супроводжується різноманітними побічними ефектами з боку шлунково-кишкового тракту, нервової системи, серцево-судинної системи, імунної системи тощо. Виражені ускладнення можуть бути з боку кістково-м'язового апарату, зокрема розвиток остеопорозу. Остеопороз, який індукований введенням глюкокортикоїдних препаратів, є метаболічним захворюванням кісткової тканини та розвивається внаслідок порушення процесу кісткового ремоделювання – остеобласт-опосередкованого формування і остеокласт-залежної резорбції (демінералізації) з подальшою втратою маси кісткової тканини. За глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу страждають, в першу чергу, губчасті кістки, що виражається у високому ризику виникнення переламів тіл хребців, для яких характерна відсутність скарг та виникнення вже в перші місяці від початку терапії.

Вітамін D₃ разом із паратгормоном і кальцитоніном відіграє ключову роль в регуляції мінерального обміну. Крім цього, вітамін D₃ бере участь у регуляції обміну речовин, проліферації та диференціації клітин, регуляції функції органів та систем тощо. Недостатність вітаміну D₃ обумовлює підвищений ризик розвитку ряду патологічних процесів та системних захворювань.



У зв'язку з цим актуальність роботи Хоменко А.В. відповідає сьогоденним запитам біологічної та медичної науки, оскільки її метою є дослідження особливостей метаболізму вітаміну D₃ та прояву його функціональної активності за тривалої дії глюкокортикоїдного препарату – преднізолону, а також експериментальне обґрунтування шляхів корекції виявлених порушень.

Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами. Робота виконувалась впродовж 2009 - 2013 рр. в рамках бюджетних наукових тем лабораторії медичної біохімії Інституту біохімії імені О.В. Палладіна НАН України: «Дослідження молекулярних механізмів реалізації біологічної ролі вітамінів, коферментів та їх специфічних білків-акцепторів у забезпеченні нормального функціонування та життєздатності клітин в нормі та за умов деяких патологій», розділ теми: «Дослідження молекулярних механізмів дії вітаміну Е на обмін та фізіологічні функції вітаміну D₃ у нормі та за деяких патологій» (2007 – 2011 рр., шифр теми 2.2.10, № 4) та «Роль вітамінів А, Е, В1, РР, D₃, убіхінону та їх коензимів у забезпеченні функціонування спеціалізованих клітин за норми та за умов ініціації їх загибелі», розділ теми: «Дослідження регуляторної ролі вітаміну D₃ у функціонуванні спеціалізованих клітин в нормі та за патологій, що індукують їх загибель» (2012 – 2016 рр., шифр теми 2.2.10, № 4). Крім того, роботу було підтримано стипендією ім. Р.В. Чаговця для переможця конкурсу на здобуття стипендії імені видатних учених - біохіміків Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (2011 р.).

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертантом вперше з'ясовані особливості метаболізму вітаміну D₃ у гепатоцитах за експериментального преднізолон-індукованого остеопорозу. Автором вперше продемонстровано цитотоксичний ефект тривалого введення преднізолону на гепатоцити, що виявлявся у посиленому генеруванні активних форм кисню, індукції структурних змін клітинних органел, активації некротичних процесів, зниженні співвідношення про- і

антиапоптичних протеїнів (Bax/Bcl-2) й життєздатності гепатоцитів. Автором встановлено доцільність використання вітаміну D₃ як засобу корекції преднізолон-індукованих змін інтенсивності гідроксилювання холекальциферолу та мінерального обміну, а також вперше показано та обґрунтовано в експерименті ефективність сумісної дії вітамінів D₃ та E як оптимального поєднання фізіологічно-активних сполук для відновлення забезпеченості організму вітаміном D₃ й, відповідно, корекції порушень кісткової тканини за глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу.

Практичне значення результатів дослідження. Отримані Хоменко А.В. у дисертаційній роботі результати мають велике практичне значення, оскільки поглиблюють уявлення про біохімічні особливості розвитку вторинного глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу та слугують основою розробки методичних рекомендацій щодо впровадження препарату вітаміну D₃ сумісно з вітаміном E в профілактику і лікування цього патологічного стану.

Ступінь обґрунтованості та достовірність положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Достовірність результатів та висновків дисертаційної роботи базується на достатній кількості експериментально-біохімічних досліджень. У дисертації Хоменко А.В. застосовані сучасні біохімічні, гісто- й цитохімічні методи, методи світлової мікроскопії та протокової цитофлюориметрії, адекватні поставленим завданням. На основі чітко сформульованих завдань, використання комплексного методичного підходу дисертанту вдалося досягти поставленої в роботі мети. Усі висновки дисертаційної роботи є обґрунтованими і доведеними.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. У приведених публікаціях повністю відображено основні результати з усіх розділів дисертації. Автореферат Хоменко А.В. повністю розкриває зміст дисертації і дає повне уявлення про наукову цінність і практичну значимість дисертаційної роботи. Зміст автореферату ідентичний

основним положенням дисертації. Оформлення дисертації та автореферату здійснено у відповідності до вимог ДАК МОН України. Ступінь оприлюднення матеріалів дисертації достатній.

Загальна характеристика дисертації. Дисертація Хоменко А.В. побудована за загально прийнятою та рекомендованою структурою: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень та їх обговорення, висновки та список використаних джерел, що налічує 332 найменування. Дисертація викладена на 158 сторінках друкованого тексту, містить 21 рисунок та 30 таблиць, написана гарною науковою мовою.

У загальній характеристиці роботи автор розкриває суть обраного напряму наукових досліджень та обґрунтовує його актуальність. Автором сформульовані мета, завдання дослідження, викладені наукове і практичне значення отриманих результатів.

В огляді літератури Хоменко А.В. усебічно охарактеризувала сучасний стан розвитку досліджень із вивчення метаболізму та біологічної активності вітаміну D₃ в організмі, узагальнила уявлення про глюкокортикоїди, їх участь у регулюванні обмінних процесів організму та їх вплив на метаболізм вітаміну D₃. Автором висвітлено питання про ускладнення терапії глюкокортикоїдами, серед яких найбільш частим є глюкокортикоїд-індукований остеопороз. Розділ характеризується достатньою повнотою аналізу новітніх наукових праць як вітчизняних, так і закордонних авторів та їх критичною оцінкою, що дозволило дисертанту окреслити невирішені питання. Огляд свідчить про широку ерудицію дисертанта, обізнаність з досягненнями в галузі обраної ним проблеми та вміння визначити шляхи наукового пошуку.

Розділ «Матеріали та методи досліджень» присвячений характеристиці методів досліджень. В роботі використано широкий спектр біохімічних, імунохімічних, гісто- й цитохімічних методів, методів світлової мікроскопії та протокової цитофлюориметрії.

Експериментальна частина дисертаційної роботи побудована за єдиною логічною схемою, виконана на високому сучасному науково-методичному рівні.

Автором показано, що вираженість змін вмісту 25OHD₃ у сироватці крові обумовлюється переважно тривалістю введення преднізолону і в меншій мірі залежить від дози препарату. В результаті проведених досліджень з метою індукування розвитку експериментального вторинного глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу було обрано дозу препарату преднізолон 5 мг/кг, який вводили дослідним тваринам перорально щодоби протягом 30 діб. Показано, що введення преднізолону супроводжується розвитком гіпокальціємії, гіпофосфатемії, зростанням активності лужної фосфатази і її кісткового ізоензиму у сироватці крові та зменшенням вмісту мінеральних компонентів кісткової тканини.

Дисертантом продемонстровано значне зниження вмісту 25OHD₃ у сироватці крові за тривалого введення преднізолону порівняно з контролем, що свідчить про розвиток стану глибокої D-вітамінної недостатності організму, причиною якого є пригнічення активності вітамін D₃ 25-гідроксилази гепатоцитів та зниження тканинної експресії її ізоензимів CYP27A1 й CYP2R1.

Автором було охарактеризовано структурно-функціональний стан тканини печінки і гепатоцитів за умови введення преднізолону за змінами експресії про- й антиапоптичних протеїнів родини Bcl-2 (Bax, Bcl-2), рівня життєздатності клітин, генерування ними активних форм кисню та цитоморфологічними даними. Було продемонстровано, що преднізолон-індуковані порушення метаболізму холекальциферолу у гепатоцитах супроводжуються посиленням генеруванням активних форм кисню, що опосередковано може обумовлювати дисфункцію мітохондрій, зменшенням співвідношення про- й антиапоптичних протеїнів Bax/Bcl-2, деструктивними змінами клітинних мембран і органел та зростанням частки некротично загиблих клітин.

З метою попередження та корекції встановлених преднізолон-індукованих порушень метаболізму холекальциферолу та прояву його фізіологічних функцій дисертантом було використано саме вітамін D₃. При порівняльному дослідженні двох доз вітаміну D₃ – профілактичної (40 МО D₃) і лікувальної (100 МО D₃), за вираженістю корегувального ефекту, зокрема, в активації вітаміну D₃ 25-гідроксилази гепатоцитів та відновленні рівня 25ОНD₃ сироватки крові, автором було обрано дозу у 100 МО D₃.

З метою підсилення функціональної активності холекальциферолу дисертантом було запропоновано сумісне введення вітаміну D₃ із фізіологічною дозою вітаміну E, що є найбільш оптимальним поєднанням біологічно-активних сполук для активації вітаміну D₃ 25-гідроксилази гепатоцитів, що може бути обумовлене посиленням експресії її субклітинних ізоензимів CYP27A1 й CYP2R1, підвищення рівня 25ОНD₃ в сироватці крові та нормалізації мінерального обміну в організмі (вмісту кальцію, фосфату неорганічного, активності лужної фосфатази в сироватці крові та мінеральних компонентів кісткової тканини) за глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу.

Разом із викладенням отриманих результатів автор проводить їх узагальнення, аналізує і класифікує за біохімічними механізмами, що є прикладом логічної систематизації та критичного підходу до аналізу власних результатів. Одержані результати стали основою для висновків, які об'єктивно віддзеркалюють власні спостереження, відповідають меті і завданням дослідження.

Список використаних джерел оформлений у відповідності до сучасних вимог та не викликає зауважень.

Питання та побажання щодо змісту та оформлення дисертації.

Дисертаційна робота справляє позитивне враження – вона викладена доступно, логічно, добре оформлена. Оцінюючи дисертаційне дослідження, впевнено можна сказати, що одержані матеріали мають значне теоретичне та практичне значення.

Під час ознайомлення з роботою виникли деякі питання, на які хотілось би отримати відповідь:

1. До якої вікової групи належать експериментальні тварини, які були використані в роботі? На яку вікову групу пацієнтів можна екстраполювати отримані в роботі дані?
2. Чи були експериментальні тварини, які використовувалися в роботі, статевозрілими та як автор верифікував це?
3. Чим обумовлений вибір автором дози преднізолону 5 мг/кг і 10 мг/кг та терміну його введення? Чи є використана автором модель вже відомою або авторською?
4. Яка форма вітаміну Е використовувалася в роботі?
5. Як, на думку автора, можна пояснити ще більше зростання активності вітаміну D₃ 25-гідроксилази в печінці тварин з глюкокортикоїд-індукованим остеопорозом за поєднаної дії фізіологічної дози вітаміну Е та вітаміну D₃ порівняно з впливом тільки вітаміну D₃?

Проте, як висновок, слід зауважити, що поставлені питання не зменшують значущості даної роботи, яка в цілому, носить закінчений характер.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Висновок.

Дисертаційна робота Хоменко Анни Вікторівни «Метаболізм та регуляторна роль вітаміну D₃ за глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу», представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія, є самостійною, завершеною науководослідною роботою. Вона містить нові дані, що стосуються особливостей метаболізму вітаміну D₃ та прояву його функціональної активності за тривалої дії глюкокортикоїдного препарату – преднізолону. Робота має не лише наукове, але й практичне значення, оскільки в ній експериментально обґрунтовано підхід до корекції виявлених порушень.

За актуальністю, новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, глибиною узагальнень та висновків, а також за

технічним оформленням представлена дисертаційна робота у повному обсязі відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року, а її автор, без сумніву, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент -

провідний науковий співробітник

лабораторії молекулярної біохімії

ДУ «Національний науковий центр

«Інститут кардіології ім. М.Д.Стражеска»

НАМН України,

доктор біологічних наук, професор



О.Б. Кучменко

