ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Ковальчук Христини Володимирівни «Діагностична значимість реактивності рецепторів тромбоцитів в розвитку і прогресуванні вікової дегенерації макули», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» у спеціалізовану вчену раду ДФ 26.613.060 у Національному університеті охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Серед людей похилого віку вікова дегенерація макули (ВДМ) є головною причиною втрати зору. В Європі з 1990 по 2013 рік поширеність ранньої стадії ВДМ зросла на 3,5% у віці 55-59 років та до 17,6% у віці ≥85 років; для пізньої ВДМ ці показники становили відповідно 0,1% та 9,8%. За прогнозами, до 2040 року кількість людей у Європі з ранньою стадією ВДМ буде становити від 14,9 до 21,5 мільйона, а з пізньою стадією ВДМ – від 3,9 до 4,8 мільйона. Факторами ризику розвитку і прогресування ВДМ вважаються вік, стать, незбалансоване харчування, високий індекс маси тіла, наявність гіпертонії, рівень ЛПНЩ, вплив сонячного світла, куріння, а також генетичні чинники. Проте, індивідуальна реактивність організму та функціональний стан рецепторного апарату клітин в ініціації патології сітківки при ВДМ не отримали належного відображення в літературі. Гемодинамічні зміни, розвиток ішемії тканин ока та оксидативний стрес, хронічне запалення та дисфункції клітин пігментного епітелію сітківки (ПЕС) є основними причинами в патогенезі ВДМ. До теперішнього часу немає ефективного способу лікування вологої форми ВДМ. У зв'язку з цим, необхідно поглибити розуміння патофізіологічних механізмів, що лежать в основі виникнення і прогресування ВДМ, розробити методи діагностики і прогнозування розвитку ускладнень у сітківці, та визначити нові стратегії профілактики і лікування цього захворювання.

Перспективними індикаторами розвитку ВДМ може бути функціональна активність пуринових (P2X-, P2Y1-, P2Y12-, A2A-), адренергічних α2-, β2-рецепторів та ФАТ-рецепторів, участь яких у дисфункції структур сітківки не викликає сумнівів. Пуринові рецептори регулюють проліферацію ендотелію і

неоваскулогенез, функцію ПЕС і апоптоз нейросенсорних клітин сітківки, розвиток запалення, а отже, їх можна використовувати для аналізу розвитку патологічних процесів сітківки при ВДМ. Ліганди для пуринових рецепторів (АТФ, АДФ, аденозин) можуть вивільнятися із різних типів клітин судинної оболонки, а також із еритроцитів та Тц при гіпоксії/ішемії тканин ока. Проведені дослідження показали, що симпатична нервова система відіграє важливу роль в регуляції судинного тонусу та ангіогенезі. Встановлено, що блокада β-адренорецепторів супроводжується гальмуванням експресії VEGF і подальшої неоваскулярної відповіді. Важливим фактором патогенезу ВДМ може бути формування тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів для забезпечення хронічного запалення під впливом ФАТ, який вважається прозапальним медіатором та модулятором місцевих ангіогенних і цитокінових мереж. Таким чином, активність пуринових рецепторів, адренорецепторів і ФАТ рецептору можна розглядати як систему потенційних біомаркерів розвитку ВДМ. В цьому контексті аналіз рецепторного апарату тромбоцитів (Тц) представляється перспективним, оскільки дає змогу аналізувати механізми тромбоґенезу, ступінь впливу провідних патогенетичних чинників ВДМ (віку, гіпоксії/ішемії тканин ока, хронічного запалення, активації САС), які впливають на перебіг захворювання і розвиток ускладнень.

До теперішнього часу можливості прогнозування ризику прогресування ВДМ не використані в повній мірі. Незважаючи на урахування різних прогностичних критеріїв (демографічних і екологічних ковариат, генетичних і макулярних показників), широкого практичного застосування розроблені моделі не отримали. Перспективним для прогнозування розвитку ВДМ може бути реактивність рецепторів Тц, яка дає змогу моніторити молекулярні механізми альтерації структур сітківки на ранніх етапах захворювання і розвитку вологої форми захворювання.

Отже, необхідність з'ясування функціональної активності пуринових, адренергічних і ФАТ рецепторів Тц при ВДМ визначає актуальність представленого наукового завдання, вирішення якого дасть змогу вдосконалити діагностику, профілактику та лікування пацієнтів з макулярною патологією.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.

Дисертаційна робота була виконана на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України і є фрагментом науково-дослідної роботи «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування та профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» (№ держреєстрації 0116U002821, 2016-2020 рр.), в якій дисертант була співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів дослідження.

Наведені нові дані стосовно ролі тромбоцитів у патогенезі ВДМ. Встановлена гіперреактивність рецепторів тромбоцитів у пацієнтів похилого віку, що зумовлює підвищення проагрегантного стану крові, наслідком чого є порушення мікроциркуляції, розвиток гіпоксії та ішемії тканин сітківки.

Вперше встановлена участь пуринів (АТФ, АДФ, аденозину), катехоламінів і прозапального медіатору ФАТ у друзоґенезі та атрофії ПЕС при сухій формі ВДМ. Проявом зростання кількості друз було підвищення активності P2X-рецепторів і A2A-рецепторів ($p<0,01$); при збільшенні розміру друз спостерігали гіперреактивність α2-адренорецептору, P2X- і ФАТ-рецепторів ($p<0,001$), та – гіпореактивність β2-адренорецептору ($p<0,01$). Розвиток дистрофічних змін в ПЕС пов'язаний зі зростанням реактивності пуринових P2Y- і P2X- рецепторів, α2-адренорецепторів і ФАТ-рецепторів ($p<0,01$). Факторами ризику розвитку ГА-ПЕС було перманентне зростання активності P2Y-рецепторів, та зниження активності A2A-рецепторів і β2-адренорецепторів ($p<0,001$).

Вперше наведені докази, що факторами ризику вологої форми ВДМ було зростаюче порушення метаболізму пуринів внаслідок гіпоксії і ішемії тканин ока, яке було проявом підвищенням активності P2Y-, P2X- і A2A-рецепторів Тц; активація САС і хронічне запалення, яке характеризується гіперреактивністю α2-адренорецепторів і ФАТ-рецепторів Тц.

Вперше доведено, що активність і взаємодія різних рецепторів Тц відображали розвиток асоціації хоріоідальної неоваскуляризації (ХНВ), серозного відшарування нейросенсорного епітелію (СВНС)/ПЕС,

ретинальних твердих ексудатів (РнТЕ) і географічної атрофії (ГА)-ПЕС у сітківці. Розвиток асоціації ХНВ з РнТЕ зумовлений зростаючою активністю А2А-рецепторів, α2- і β2-адренорецепторів та гальмуванням стимуляції Р2Х-рецепторів Тц; розвиток асоціації ХНВ з ГА-ПЕС – гіперреактивністю пуринових Р2Х- і Р2Y-рецепторів, α2-адренорецептору і ФАТ-рецептору. Індикаторами розвитку СВНС/ПЕС і ХНВ є активація і взаємодія А2А- і Р2Х-рецепторів, тоді як асоціація СВНС/ПЕС з РнТЕ характеризувалась взаємодією ФАТ-рецепторів, Р2Y–рецепторів та α2-адренорецепторів.

Вперше розроблені регресійні прогностичні моделі розвитку стадій ВДМ, ризику хоріоідальної неоваскуляризації і відшарування нейросенсорної сітківки чи ПЕС при вологій формі ВДМ та ризику обтяження ускладнень в сітківці при прогресуванні захворювання, що дасть змогу забезпечити індивідуальну оцінку ризиків розвитку макулярної патології та в перспективі вибір методів лікування пацієнтів на ранніх етапах захворювання.

Теоретичне значення результатів дослідження.

Отримані в результаті проведеного дисертаційного дослідження наукові положення та висновки дозволили встановити нові ланки патогенезу вікової дегенерації макули, а саме визначити перспективні індикатори розвитку ВДМ – функціональну активність пуринових (Р2Х-, Р2Y1-, Р2Y12-, А2А-), адренергічних α2-, β2-рецепторів та ФАТ-рецепторів, які беруть участь у дисфункції структур сітківки та сприяють розвитку та прогресуванню захворювання.

Практичне значення результатів дослідження.

На основі встановлених предикторів розроблено систему прогностичних моделей ризику прогресування ВДМ, виникнення хоріоідальної неоваскуляризації, відшарування сітківки та обтяження ускладнень. До факторів ризику, які сприяють прогресуванню захворювання належать активність пуринових Р2Х-, А2А-рецепторів, ФАТ-рецепторів, а також α2-, β2-адренорецепторів; розроблена модель дає змогу прогнозувати ризик розвитку стадії у 85,6% випадків ВДМ. Критичний рівень активності аденозинового А2А-рецептору (>63%) є прогностичним щодо ризику виникнення хоріоідальної неоваскуляризації: чутливість тесту 100%, специфічність – 94,2%. Модель зв’язку ризику відшарування сітківки

заснована на активності A2A-рецептору, ФАТ-рецептору і α2-адренорецептору: чутливість моделі 100%, специфічність – 88,0%, прогностичність позитивного результату 87,5%, прогностичність негативного результату 100%. Ризик обтяження ускладнень ВДМ зумовлений стадією ВДМ, активністю P2Y-рецепторів і ФАТ-рецептору: чутливість побудованої моделі становить 74,0%, специфічність – 89,8%.

Розроблена дисертантом система моделей дасть змогу обирати, коригувати і контролювати ефективність лікувальних заходів, а також при динамічному спостереженні пацієнтів з ВДМ сприятиме поліпшенню функціональних результатів.

Ступінь обґрунтування та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, викладених в дисертаційній роботі Ковальчук Христини Володимирівни, базуються на достатньому фактичному матеріалі і є достовірними. Дослідження було проведено 146 пацієнтам (245 очей) із ВДМ. Для досліджень дисертантом використовувалися як традиційні, так і новітні методи досліджень, які відповідають поставленій меті та завданням дослідження і дозволили їх повну реалізацію.

Робота виконана на сучасному науково-методичному рівні, відповідає сучасним вимогам до проведення наукових медичних досліджень. Наукові положення і висновки, сформульовані в дисертації, адекватні поставленим завданням, логічно пов’язані з одержаними результатами дослідження.

Статистична обробка одержаного матеріалу виконана на заставах доказової медицини та містить сучасні і актуальні для дослідження методи, які дозволили отримати ґрунтовні та вірогідні висновки.

Виконаний обсяг досліджень, їх характер, аналіз та обробка дозволяють вважати результати і висновки, отримані дисертантом, вірогідними.

Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому, зауваження щодо оформлення.

Дисертаційна робота Ковальчук Христини Володимирівна «Діагностична значимість реактивності рецепторів тромбоцитів в розвитку і прогресуванні вікової дегенерації макули» побудована в класичному стилі,

цілком відповідає вимогам ДАК МОН України та наказу № 40 МОН України від 12.01.2017 року щодо оформлення дисертацій.

Дисертація викладена на 183 сторінках друкованого тексту, включає 39 таблиць та ілюстрована 21 рисунками. Список літератури містить 249 джерел (з них 34 – кирилицею і 215 – латиницею), що свідчить про актуальність обраної теми для вітчизняної та світової офтальмології.

Робота складається з анотацій, вступу, 5 розділів власних досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, двох додатків.

У «Вступі» дисертант всесторонньо обґрунтував актуальність теми дисертації, її зв'язок з науковими програмами. Чітко сформульовані мета і завдання дослідження, наукова новизна та практичне значення роботи, вказані дані про апробацію отриманих результатів та публікацій за темою дисертації. Вступ написаний за встановленими вимогами, містить всі необхідні підрозділи. Зауваження до розділу відсутні.

Розділ 1 «Огляд літератури» викладений на 15 сторінках. Дисертант дав вичерпну характеристику стану проблеми етіології, патогенезу, діагностики та прогнозування вікової дегенерації макули за даними сучасної світової літератури. В короткому резюме автор чітко і переконливо вказує на невирішені аспекти даної проблеми, які витікають з аналізу літературних джерел. Зауваження до розділу відсутні.

У розділі 2 «Дизайн, матеріал і методи дослідження», який викладено на 14 сторінках, наведено дизайн клінічних та лабораторних досліджень. Хочу зазначити що клінічні процедури проводилися згідно вимог існуючих положень про захист прав людини та правил біомедицини. Дисертант всесторонньо обґрунтував та послідовно описав методи досліджень, статистичної обробки та математичного моделювання, що дозволяє зробити висновок про обізнаність та високий професійний рівень здобувача. Зауваження до розділу відсутні.

Розділ 3 дисертації присвячено аналізу реактивності тромбоцитів при розвитку та прогресуванні 1, 2 та 3 категорії вікової дегенерації макули. Розділ викладено на 32 сторінках. Розділ має чіткий, лаконічний вислів, розташування тексту уміло перемежовується таблицями.

За результатами проведених досліджень автором встановлено, що при ранній стадії ВДМ гіперреактивність α2–адренорецепторів тромбоцитів відображає порушення ліпідного метаболізму в пігментному епітелії сітківки і появу друз в сітківці ока. Зростання кількості друз характеризувалося підвищенням активності P2X-рецепторів ($p<0,01$) і A2A-рецепторів ($p<0,001$) тромбоцитів. Збільшення розміру друз супроводжувалося підвищенням активності α2-адренорецептору, P2X- і ФАТ-рецепторів, відповідно на 33,7%, 17,3% і 11,4% ($p< 0,001$) і зменшенням активності β2-адренорецептору на 20,0% ($p< 0,01$) стосовно попереднього етапу друзоґенезу . При ВДМ розвиток дистрофічних змін в пігментному епітелії сітківки характеризувався зростанням реактивності пуринових P2Y- і P2X- рецепторів, α2-адренорецепторів і ФАТ-рецепторів тромбоцитів ($p<0,01$). Факторами ризику розвитку географічної атрофії при прогресуванні сухої форми вікової макулярної дистрофії було перманентне підвищення активності P2Y-рецепторів, та зниження активності A2A-рецепторів і β2-адренорецепторів ($p<0,001$). Зауваження до розділу відсутні.

Розділ 4 дисертації присвячено дослідженню реактивності рецепторів тромбоцитів у пацієнтів з 4 категорією вікової дегенерації макули. Розділ складає 37 сторінок; текст викладено науковим стилем із ґрунтовним доданням таблиць, діаграм та рисунків.

Згідно до отриманих даних при вологій формі ВДМ розвиток асоціації хоріоідальної неоваскуляризації з ретинальними твердими ексудатами характеризується зростанням активності A2A-рецепторів і α2-адренорецепторів тромбоцитів (відповідно, до 85,0% і 65,0% чи більше; β2-адренорецепторів – більше 55,0%, та зниженням активності P2X-рецепторів до 62,0% чи менше). Гіперактивність P2X- і P2Y- рецепторів (78,0% і 76,0% чи більше) відображала асоціацію неоваскуляризації із географічною атрофією.

Здобувачем було встановлено, що фактором ризику розвитку асоціації відшарування нейросенсорної сітківки чи пігментного епітелію сітківки з неоваскуляризацією є взаємодія A2A- і P2X-рецепторів, коли їх активність сягала, або перевищувала, відповідно, 80,0% і 75,0%; асоціація відшарування сітківки з ретинальними твердими ексудатами була проявом взаємодії ФАТ-,

P2Y-рецепторів та α2-адренорецепторів, коли їх активність сягала або перевищувала, відповідно, 72,0%, 73,0%, та 66,0%. Зауваження до розділу відсутні.

У розділі 5 автором висвітлено розроблену систему прогностичних моделей ризику прогресування ВДМ, виникнення хоріоідальної неоваскуляризації, відшарування сітківки, та обтяження ускладнень. До факторів ризику, що сприяють прогресуванню захворювання відносяться активність пуринових P2X-, A2A-рецепторів, ФАТ-рецепторів, а також α2–, β2-адренорецепторів; розроблена модель дає змогу прогнозувати ризик розвитку стадії в 85,6% випадків ВДМ. Критичний рівень активності аденозинового A2Aрецептору (>63,0%) дає змогу прогнозувати ризик виникнення хоріоідальної неоваскуляризації у 78,1% випадків ВДМ. Модель зв'язку ризику відшарування сітківки заснована на активності A2A-рецептора, ФАТ-рецептора і α2-адренорецептора; прогностичність позитивного результату моделі досягає 87,5%. Ризик обтяження ускладнень ВДМ зумовлений стадією ВДМ, активністю P2Y-рецепторів і ФАТ-рецептору; чутливість побудованої моделі становить 74,0%.

Розділ написано логічно, легко для сприйняття і аналізу. Зауваження до розділу відсутні.

Розділ 6 «Аналіз та узагальнення результатів» викладений на 7 сторінках. Автор всебічно аналізує отримані ним результати та порівнює їх з даними сучасної світової літератури з досліджуваної проблеми. Сформульовані при цьому твердження мають чіткий, вичерпний характер і сумнівів не викликають. Також автором сформульовані подальші можливі шляхи вирішення проблеми діагностики та прогнозування прогресування ВДМ.

Наприкінці дисертаційної роботи зроблені 7 висновків, які у повному обсязі відображають результати досліджень, є вичерпними і послідовними. Висновки повністю відповідають меті та завданням дослідження і стисло відображають результати проведеної роботи.

Під час вивчення дисертаційної роботи текстових запозичень, збігів, ідентичності чи схожості викладених даних без відповідних посилань не було мною встановлено не було. Робота не містить ознак академічного плагіату та

відповідає принципам наукової доброчесності.

Питання, недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення.

В цілому робота виконана на високому методологічному рівні. Принципових зауважень немає. Після ознайомлення з роботою виникли декілька запитань:

1. У своїй дисертації ви дослідили агоністи пуринових (P2X-, P2Y1-, P2Y12-, A2A-), адренергічних α2- і β2-рецепторів та ФАТ-рецепторів тромбоцитів. Чому саме ці агоністи ви обрали для дослідження?

2. Наступне запитання більш стосується практичного застосування отриманих вами результатів. Чи потрібно усім пацієнтам з ВДМ проводити дослідження реактивності рецепторів тромбоцитів? І ще одне – а можливо, на вашу думку, має сенс проводити це дослідження людям, які не мають ВДМ, але входять в групу ризику по даному захворюванню?

Зауваження.

1. На мою думку робота дещо перевантажена проміжними статистичними даними.

2. В роботі зустрічаються поодинокі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні помилки.

Зазначені питання та зауваження не носять принциповий характер і не знижують наукової цінності дисертації.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Основні результаті дисертації опубліковані в 15 наукових працях, які відповідають вимогам п. 11 Постанови Кабінету міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», зокрема 3 статті в журналах з «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», з них 1 видання, яке входить до наукової бази SCOPUS, 1 стаття у закордонному виданні Євросоюзу з напряму, з якого підготовлена дисертація, у тому числі 1 стаття у моноавторстві, 11 робіт – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з’їздів, симпозіумів, у тому числі іноземних, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Особистий внесок здобувача в одержання наукових результатів, що виносяться на захист.

Дисертація є особистою науковою працею здобувача. Вибір теми дисертації, спрямованість дослідження належить науковому керівнику д. мед. н. професору С. Ю. Могілевському і дисертанту. У співавторстві з науковим керівником визначена методологічна побудова роботи.

Дисертантом самостійно проведений інформаційний і патентний пошуки, аналіз наукової літератури з досліджуваної проблеми.

Здобувач самостійно здійснила підбір і рандомізацію пацієнтів у групи, провела офтальмологічні дослідження.

Біохімічні дослідження виконані на базі Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (директор – д. мед. н. професор Л. В. Натрус).

Створення бази даних, статистична обробка результатів клінічних та лабораторних досліджень виконано здобувачем самостійно.

Математичні моделі прогнозування стадій ВДМ та розвитку ускладнень засновані на результатах проведених офтальмологічних і лабораторних досліджень були розроблені при консультативній допомозі доцента кафедри менеджменту охорони здоров'я Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, к. фіз.-мат. н. доцента В. Г. Гур'янова.

Аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання основних наукових положень і висновків дисертації були виконані спільно з науковим керівником д.мед.н., професором С. Ю. Могілевським.

У наукових працях, опублікованих за матеріалами дисертації в співавторстві здобувачу належала провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі результатів.

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження.

Отримані автором результати дисертаційного дослідження можуть застосовуватися у науковій і навчальній роботі профільних і суміжних кафедр медичних вищих навчальних закладів України.

Отримані практичні результати можливо застосовувати у практичній роботі офтальмологів.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Ковальчук Христини Володимирівни «Діагностична значимість реактивності рецепторів тромбоцитів в розвитку і прогресуванні вікової дегенерації макули», яка виконана у Національному університеті охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України є самостійним, завершеним науковим дослідженням, у якому вирішене актуальне завдання сучасної офтальмології – оптимізація діагностики та прогнозування прогресування вікової дегенерації макули. Представлена дисертаційна робота сучасна, актуальна, вносить вклад в теоретичну і практичну офтальмологію та відповідає вимогам «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 06.03.2019 р. № 167, а її автор – Ковальчук Христина Володимирівна заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина».

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри офтальмології ФПДО
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького
д.мед.н., професор Гудзь А.С.

Підпис

ЗАСВІДЧУЮ
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР
ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО
МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ім. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

15.12.2021