

ОТЗЫВ официального оппонента

д.м.н., доцента Коханова Александра Владимировича

на диссертационную работу Цымбалюка Игоря Юрьевича «Коррекция патобиохимических изменений при васкулярной эксклюзии печени с использованием дихлорацетата натрия (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 03.01.04 – биохимия

Актуальность темы диссертации

В работе Цымбалюка И.Ю. представлено изучение особенностей развития и течения ишемически-реперфузионного повреждения печени в условиях ее частичной сосудистой изоляции. Использование в хирургической гепатологии различных методик превентивной васкулярной эксклюзии печени, осуществляемых с целью снижения интраоперационной кровопотери при ее резекциях или трансплантациях, неизбежно приводит к развитию комплекса метаболических, морфологических и иммунологических изменений, именуемых как ишемически-реперфузионный синдром.

Ведущими патобиохимическими звеньями развития повреждений при этом являются гипоксия, окислительный стресс и эндогенная интоксикация. Интересны исследования динамики развития тех или иных нарушений. Так, в ишемический период ключевым повреждающим фактором является гипоксия и локальная эндогенная интоксикация ввиду прекращения не только обеспечения органа кислородом и субстратами для окисления, но и оттока продуктов активно протекающего катаболизма. После восстановления кровотока вследствие относительной гипероксии интенсифицируется свободнорадикальное окисление, а эндогенная интоксикация принимает системный характер.

Актуальность научных исследований Цымбалюка И.Ю. не вызывает сомнения, так как они направлены на разработку и изучение эффективности нового подхода к коррекции патобиохимических изменений при оперативных вмешательствах на печени с проведением ее васкулярной эксклюзии, предусматривающего использование дихлорацетата натрия, стимулирующего активность пируватдегидрогеназного комплекса, таким образом нормализуя процессы клеточного дыхания.

Подтверждает важность диссертационного исследования Цымбалюка И.Ю. для современной фундаментальной и клинической медицины его проведение в соответствии с планом научно-

исследовательских работ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в рамках комплексных тем НИР кафедр хирургии №2 факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов («Оптимизация хирургического лечения заболеваний билиопанкреатодуоденальной зоны (экспериментально-клиническое исследование)»), номер государственной регистрации АААА-А17-117052510085-7) и фундаментальной и клинической биохимии («Изучение молекулярных механизмов и разработка инновационных биохимических подходов диагностики, мониторинга и коррекции адаптационного потенциала у лиц, работающих в экстремальных условиях, при высоких физических нагрузках и различных патологических состояниях»), номер государственной регистрации АААА-А17-117060610055-4).

Степень достоверности и новизны полученных автором результатов

В работе Цымбалюка И.Ю. проведено полное комплексное исследование по разработке способа метаболической коррекции ишемически-реперфузионных нарушений при васкулярной эксклюзии печени, включавшее несколько этапов. На первом этапе произведена предварительная оценка возможностей и перспектив использования различных схем введения дихлорацетата натрия. Второй этап включал токсикологическое исследование применения дихлорацетата натрия по схеме введения, выбранной по результатам первого этапа (внутрибрюшинно 300 мг на 1 кг массы тела животного в 0,5 мл физиологического раствора, непосредственно в момент выключения печени из системного кровообращения). Наконец, основной раздел исследования был посвящен подробному разностороннему изучению особенностей окислительного метаболизма и эндогенной интоксикации у животных с васкулярной эксклюзией печени на фоне введения дихлорацетата натрия с целью метаболической коррекции.

Для достижения поставленных задач были проведены лабораторные биохимические исследования активности маркеров цитолитического синдрома и ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), а также концентрации восстановленного глутатиона и тиоловых групп. Для оценки уровня эндогенной интоксикации определялось содержание веществ со средней и низкой молекулярными массами. Для мониторинга выраженности свободнорадикальных процессов выполнялись биофизические исследования интенсивности хемилюминесценции и определение содержания продуктов

окислительных модификаций биомолекул, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Для получения более полной картины особенностей изменения обмена веществ проводилось исследование лабораторных показателей крови и ткани печени животных. Статистическая обработка данных выполнялась в соответствии с общепринятыми методами с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Таким образом, достоверность и научная новизна полученных в работе результатов не вызывают сомнений.

Обоснованность научных положений, результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Объем научного материала включает достаточное количество экспериментальных наблюдений – исследования выполнены на 292 белых нелинейных крысах-самцах, разделенных в соответствии с этапами работы. Основной раздел эксперимента проведен на 142 белых нелинейных крысах-самцах массой 230-260 г, сформированных в 7 групп, включая контрольную (ложнооперированные животные), три сравнения (с проведением васкулярной эксклюзии печени на 10, 15 и 20 минут без метаболической коррекции возникающих нарушений) и три опытных (по продолжительности сосудистой изоляции печени сопоставимых с опытными, с введением дихлорацетата натрия).

Биохимические исследования проведены с использованием современных методик и оборудования, в том числе разработанных и внедренных на кафедре фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Выводы и практические рекомендации диссертационного исследования достаточно полно отражают содержание работы, сформулированы корректно и соответствуют поставленным задачам.

Вышеперечисленное дает основание заключить, что полученные результаты и сделанные на их основе выводы и практические рекомендации являются достаточно обоснованными и достоверными.

Научная и практическая значимость результатов исследования, а также рекомендации по их использованию

Полученные автором результаты исследований, несомненно, расширяют имеющиеся представления о биохимических особенностях течения ишемически-реперфузионного синдрома не только при повреждении печени в частности, но и в целом как патологического процесса, сопровождающего течение многих сердечно-сосудистых и хирургических заболеваний и состояний. Так, в рецензируемой работе автором

продемонстрирована диагностическая ценность определения некоторых показателей цитолиза гепатоцитов, эндогенной интоксикации и функционального состояния прооксидантно-антиоксидантной системы в разные сроки проведения частичной сосудистой изоляции печени. Также показано влияние дихлорацетата натрия на обмен веществ и уровень цитолиза при пережатии печеночно-двенадцатиперстной связки, разработана оптимальная схема метаболической коррекции ишемически-реперфузионных повреждений печени.

Значимость результатов исследований подтверждается использованием их в учебном процессе кафедры хирургии № 2 факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов и кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, а также в лабораторной практике Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Разработанный способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте, оригинальность которого подтверждена патентом на изобретение, внедрен в практику клиническо-ветеринарного отделения ФГБНУ «НИИ МП».

Полученные автором результаты могут найти применение в следующих областях медицины: хирургии, биохимии, трансплантологии и клинической лабораторной диагностике.

Замечания по диссертационной работе

Существенных замечаний по представленной диссертации нет, вместе с тем имеются немногочисленные недостатки, такие как сложные фразы и стилистические ошибки, которые не носят принципиального характера и не влияют на ее положительную оценку в целом.

Вопросы к диссертанту:

1) Известно, что активация пируватдегидрогеназного комплекса путем дефосфорилирования регулируется двумя ферментами либо ингибированием аллостерического фермента киназы пируватдегидрогеназы, либо повышением активности фосфатазы фосфопируватдегидрогеназы. Является ли киназа пируватдегидрогеназы единственной точкой приложения ДХА? Что известно про механизм ингибирования киназы пируватдегидрогеназы дихлорацетатом (обратимое, необратимое, конкурентное, неконкурентное)?

2) Хлорорганика как ксенобиотик всегда вызывает определенные опасения. Известны ли LD₅₀ для этого вещества у экспериментальных животных? Как в организме происходит биотрансформация дихлорацетата?

3) С какой целью проводилось параллельное изучение содержания восстановленного глутатиона и в эритроцитах и в печени? Имеет ли это отношение к отсутствию у эритроцитов митохондрий и окислительного декарбоксилирования пирувата или речь идет всего лишь местном и системном уровнях оценки ишемически-реперфузионных нарушений?

Степень завершенности и качество оформления диссертации

Диссертация написана в классическом стиле, изложена на 124 страницах машинописного текста, имеет следующую структуру:

- введение, кратко излагающее суть всей диссертационной работы на 8 страницах;
- обзор литературы (глава 1), представленный на 23 страницах, в котором описано современное состояние изучаемых в диссертационном исследовании вопросов;
- описание материалов и методов исследования на 23 страницах – глава 2, в которой подробно охарактеризованы все использованные в работе экспериментальные и лабораторные методики, а также оборудование и средства, в том числе статистической обработки данных;
- третья глава – результаты собственных исследований по выбору оптимальной схемы введения дихлорацетата натрия, оценке его токсичности и механизмов гепатопротекторного действия при сосудистой изоляции печени (на 18 страницах);
- четвертая глава – обсуждение полученных результатов с подробным описанием поэтапного развития ишемически-реперфузионного повреждения печени, а также объяснением выявленных эффектов влияния дихлорацетата натрия на течение исследуемого патологического процесса (на 12 страницах);
- заключение с кратким обсуждением полученных результатов (на 7 страницах);
- 5 выводов и 3 рекомендации для внедрения в практическую медицину, а также описание перспектив дальнейших исследований.

Работа удачно иллюстрирована 13 подробными рисунками, в том числе графическими диаграммами, кроме того, включает также 11 таблиц. Перечень литературы содержит 163 источника, из которых 49 отечественных и 114 зарубежных авторов.

Полнота опубликования основных результатов исследования

По теме диссертационного исследования всего опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 – в журналах, включенных ВАК при Минобрнауки России в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, 2 – в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систему цитирования Scopus, получен 1 патент на изобретение.

Материалы диссертации были также представлены на XIV научно-практической конференции молодых ученых и студентов Юга России «Медицинская наука и здравоохранение» (Краснодар, 2016), V Съезде биохимиков России (Сочи-Дагомыс, 2016) и на Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Технологический форсайт 2.0» (Краснодар, 2016).

Основные результаты диссертационного исследования в указанных печатных работах представлены в полном объеме.

Заключение

Диссертационная работа Цымбалюка И.Ю. «Коррекция патобиохимических изменений при васкулярной эксклюзии печени с использованием дихлорацетата натрия (экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 03.01.04 – биохимия, является научно-квалификационной работой, выполненной лично автором под руководством доктора медицинских наук, профессора Мануйлова А.М. и доктора медицинских наук, доцента Басова А.А. Диссертация содержит новые достоверные данные, имеющие практическое и теоретическое значение для современной медицины, в том числе биологической химии, хирургии, клинической лабораторной диагностики и трансплантологии. В работе определена роль и временная зависимость изменений окислительного метаболизма и уровня эндогенной интоксикации при повреждении печени в ходе ее васкулярной эксклюзии. Автором разработан и апробирован в экспериментальной практике оригинальный способ снижения гепатоцитолита в условиях частичной сосудистой изоляции печени в эксперименте, позволяющий продлить безопасные сроки использования маневра Прингла.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Цымбалюка Игоря Юрьевича соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335; от 02.08.2016 г. № 748; от 29.05.2017 г. № 650; от 28.08.2017 г. № 1024), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.17 – хирургия и 03.01.04 – биохимия.

Официальный оппонент:

Заслуженный врач РФ, профессор
кафедры биологической химии
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Астраханский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
доктор медицинских наук,
доцент



Коханов Александр Владимирович

Подпись доцента Коханова А.В. заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Астраханский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
кандидат медицинских наук, доцент



Кульков В.Н.

« 15 » мая 2018 г.

414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел.: (8512) 52-41-43;
адрес электронной почты: agma@astranet.ru;
адрес сайта в сети «Интернет»: <http://astgm.ru>

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Цымбалюка Игоря Юрьевича на тему «Коррекция патобиохимических изменений при васкулярной эксклюзии печени с использованием дихлорацетата натрия (экспериментальное исследование)» по специальностям 14.01.17 – хирургия и 03.01.04 – биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет Д 208.038.01, действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063, город Краснодар, улица Седина, дом 4, т. (861) 262-50-18, адрес электронной почты: corpus@ksma.ru; адрес официального сайта в сети «Интернет»: <http://www.ksma.ru>)

№	Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	Ученая степень (шифр специальности, по которой присуждена ученая степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников)	Ученое звание
1	2	3	4	5	6
1.	Коханов Александр Владимирович	1952, Россия	ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, г. Астрахань, профессор кафедры биологической химии	Доктор медицинских наук, 03.01.04 – биохимия	Доцент
Данные о научной деятельности по заявленной научной специальности за 5 лет, предшествующих дате подачи ходатайств организации:					
а) перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, а также в специализированных профессиональных базах данных			1. К вопросу о значении теста на α_2 -макроглобулин для своевременной диагностики тяжести воспалительного процесса в поджелудочной железе / В.А. Журнаджьянц, Э.А. Кчибеков, А.В. Коханов [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2016. – Т. 11, № 3. – С. 405-408.		

<p>Astrophysics, PubMed, Mathematics, Chemical Abstracts, Springer, Agris, GeoRef, MathSciNet, BioOne, Compendex, CiteSeerX;</p>	
<p>б) перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, с указанием импакт-фактора журнала на основании данных библиографической базы данных научных публикаций российских ученых – Российского индекса научного цитирования (РИНЦ);</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Мусатов, О.В. Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови в зависимости от вида операции при ранах печени, селезенки и почки в эксперименте / О.В. Мусатов, С.А. Зурнаджан, А.В. Коханов // Астраханский медицинский журнал. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 63-69. (<i>Импакт-фактор 0,284</i>) 2. Уровни ферритина в сыворотках крови и перитонеальном экссудате крыс при внутрибрюшинном инфицировании монокультурой бактерий / А.А. Мусагалиев, А.В. Коханов, М.Ю. Воронкова [и др.] // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – Электрон. журн. – 2017. – № 5. – URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26748 (дата обращения: 13.04.2018). (<i>Импакт-фактор 0,413</i>) 3. Уровни сывороточного ферритина и термостабильной фракции альбумина в крови у больных аппендикулярным перитонитом / А.В. Коханов, Э.А. Кчибеков, О.А. Луцева [и др.] // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – Электрон. журн. – 2016. – № 6. – URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25588 (дата обращения: 13.04.2018). (<i>Импакт-фактор 0,413</i>) 4. Коханов, А.В. Разработка экспресс-метода диагностики интоксикационного синдрома / А.В. Коханов, Г.А. Гаджиев // Научно-методический электронный журнал «Концепт» [Электронный ресурс]. – Электрон. журн. – 2015. – Т. 30. – С. 606-610. – URL: http://e-koncept.ru/2015/65192.htm (дата обращения: 13.04.2018). (<i>Импакт-фактор 0,259</i>) 5. Мусатов, О.В. Динамика индикаторных ферментов сыворотки крови в зависимости от видов операций при разрыве почки в эксперименте /

	О.В. Мусатов, С.А. Зурнаджан, А.В. Коханов // Экспериментальная и клиническая урология. – 2014. – № 1. – С. 16-19. (Импакт-фактор 0,538)
в) общее число ссылок на публикации официального оппонента в РИНЦ;	137
г) участие с приглашенными докладами на международных конференциях;	—
д) рецензируемые монографии по тематике, отвечающей заявленной научной специальности;	—
е) препринты, размещенные в международных исследовательских сетях.	—

Официальный оппонент:

профессор кафедры биологической химии
ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России
доктор медицинских наук, доцент

А.В. Коханов

Сведения верны:

Ученый секретарь Ученого совета
ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России
кандидат медицинских наук, доцент



В.Н. Кульков

13.04.2018 г.