

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу **Струтинського Руслана Борисовича “Механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів калієвих каналів”**,
подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Актуальність теми дисертації. З’ясування ендогенних механізмів захисту серця та збереження його функції при ішемії міокарда є актуальною проблемою сучасної фізіології та медицини. Поширеність захворювань серцево-судинної системи (с.с.с.) та смертність від них як у світі, так і в Україні залишаються до нинішнього часу на першому місці серед усіх патологій. У свою чергу, ішемічна хвороба серця та інфаркт міокарда є провідними кардіальними захворюваннями. До ендогенних механізмів захисту від ішемії міокарда відноситься активація SUR-рецепторів АТФ-чутливих калієвих каналів. Їхньою особливістю є властивість відкриватися у відповідь на зниження цитоплазматичного вмісту АТФ нижче ніж мілімолярні рівні, завдяки чому їх можна вважати провідним метаболічним сенсором клітини щодо її енергозабезпечення.

Разом з тим, механізми їх кардіопротекторної дії до нинішнього часу є майже не вивченими. Актуальним є також з’ясування поширення алельних поліморфізмів генів, що кодують структурні субодиниці K_{ATP} -каналу та їх можливого значення як генетичних факторів ризику виникнення патологій с.с.с. Тому актуальність дисертаційної роботи Струтинського Р.Б., присвяченої дослідженню механізмів кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів клітинних мембран та можливої ролі їх алельних поліморфізмів в розвитку серцево-судинних захворювань не викликає сумніву.

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. У роботі, що рецензується представлені нові механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії міокарда. Запропоновано, що захисний ефект активації SUR-рецепторів калієвих каналів реалізується за рахунок комплексних механізмів, в

основі яких лежать гальмівні процеси, що включає зміни кардіогемодинаміки і метаболічних процесів. Показано, що важливими механізмами кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда є: попередження реперфузійної вазоконстрикції коронарних судин, помірне зниження артеріального тиску та відносно збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії; мембранопротекція, ймовірно, внаслідок пригнічення активності фосфоліпази A_2 та деградації фосфоліпідів мембран; пригнічення надлишкового індукцйбельного та реутилізаційного і, навпаки, підвищення протективного конститутивного синтезу NO, пригнічення деградації L-аргініну аргіназою та зростання вмісту сфінгозину, який у фосфорильованій формі може підвищувати активність cNOS; зменшення деградації АТФ та посилення гемоксигеназної реакції; попередження утворення патогенних за ішемії LTC_4 та TxB_2 , які можуть мати коронароконстрикторну, аритмогенну та прооксидантну дію; значне обмеження генерації активних форм кисню та азоту, та деяке підвищення активності ферментів антиоксидантної системи: каталази і супероксиддисмутази.

Про потужну антиішемічну дію їх активації при ішемії-реперфузії свідчить інгібування реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який має місце винятково в умовах ішемії, та посилення генерації нітрит-аніона, який утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в оксигенованих розчинах, збереження цілісності сарколеми та структури внутрішньоклітинних органел, зменшення контрактури міофіламентів, попередження деструкції мітохондрій та значного зменшення розміру інфаркта міокарда.

Автором роботи вперше показано, що оптимальною для кардіопротекції є помірна активація SUR-рецепторів калієвих каналів, а в антиішемічному захисті міокарда K_{ATP} -канали мітохондріальної мембрани більшою мірою відповідають за підтримання скоротливої активності міокарда, тоді як сарколемальної – за коронарний кровообіг.

Струтинським Р.Б. вперше вивчено поширення алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8,

що кодують Kir6.2 та SUR1 відповідно у мешканців української популяції та показано, що воно практично не відрізняється від населення європейської та є близьким до азійської популяції. Вперше встановлено, що у хворих на хронічну серцеву недостатність спостерігається зменшення генотипів з мінорною гомозиготою цих поліморфізмів, що корелює з найменшими патологічними змінами за показниками ехокардіографії, зокрема, з найменшою масою лівого шлуночка, його кінцево-систоличним та кінцево-діастоличним об'ємом. Водночас найбільші патологічні зміни за цих поліморфізмів мають носії гетерозигот. Встановлено, що порівняно зі щурами Wistar-Kyoto у дорослих спонтанно гіпертензивних щурів експресія генів, що кодують білки Kir6.1, Kir6.2 і SUR2 значно менша, а у старих 18-місячних спонтанно гіпертензивних щурів значно знижена експресія SUR1 та SUR2 рецепторів, як по відношенню до дорослих тварин, та і порівняно зі старими щурами Wistar-Kyoto, що може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

До найсучасніших методів фармакотерапії відноситься фармакогенетичний метод, що дає змогу індивідуалізувати лікування певного хворого. Представлена в роботі залежність патогенезу такого захворювання як серцева недостатність від генетичних особливостей людини (алельні поліморфізми Pe337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala, що кодують Kir6.2 та SUR1 субодиниці K_{ATP} -каналів) та результати щодо значно меншого рівня експресії SUR1- та SUR2-рецепторів з віком у спонтанно гіпертензивних щурів, що ймовірно у них є одним із механізмів декомпенсації недостатності серця, може бути використано у клінічній практиці.

Отримані Струтинським Р.Б. експериментальні дані розкривають суть одного із основних ендогенних механізмів захисту від ішемії – активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів клітинних мембран. Представлені механізми кардіопротекції є обґрунтуванням для створення нових сучасних методів профілактики та лікування серцево-судинних захворювань. Отримані результати лягли в основу комплексних медико-біологічних досліджень зі створення нових лікарських засобів, активаторів вищезгаданих каналів,

проведення їх токсикологічних та доклінічних випробувань.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень і висновків, що сформульовані в дисертації. Дана дисертаційна робота це ґрунтовне дослідження, проведене із застосуванням сучасних методів: ішемія-реперфузія *in vitro* та *in vivo*, електрофізіологічні, тензометричні вимірювання на ізольованих судинних смужках, молекулярно-генетичні, окисне фосфорилування ізольованих мітохондрій, аноксія-реоксигенація ізольованих неонатальних кардіоміоцитів, ізольоване та перфузоване за Лангендорфом серце, дослідження кардіогемодинаміки на собаках *in vivo*, біохімічні та морфологічні дослідження.

Отримані автором результати піддані сучасному статистичному аналізу, зокрема, методу варіаційної статистики за допомогою комп'ютерних програм "Excel 2000" та Origin 7.0. Розподіл алейних поліморфізмів було перевірено тестом Колмогорова-Смирнова. Рівність відмінностей між групами оцінювалася за допомогою тесту Левена. One-Way ANOVA (аналіз дисперсії) виконували, якщо спостерігалася гомоскедастичність. Тести Брауна-Форсайт та Велха були використані в разі гетероскедастичності. Для мультимірних порівнянь був використаний тест Tukey HSD.

Основні положення та висновки дисертації базуються на великій кількості експериментального матеріалу, сформульовані чітко і ясно та логічно вінчають роботу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота Струтинського Р.Б. виконана в рамках тематичних планів відділу загальної та молекулярної патофізіології (до 2007 р. відділ експериментальної кардіології) Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, тем-грантів за договорами між НАН України та Державною адміністрацією м. Києва, за комплексними та інноваційними програмами Президії НАН України та Державного комітету України з питань науки, інновацій та інформатизації, Державної цільової науково-технічної програми розроблення новітніх технологій створення вітчизняних лікарських засобів для

забезпечення охорони здоров'я та задоволення потреб ветеринарної медицини. Струтинський Р.Б. був відповідальним виконавцем 5 тематичних розділів відділу загальної та молекулярної патофізіології (до 2007 р. відділ експериментальної кардіології) Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ та 11 тем-грантів, а саме: № держреєстрації: 0019840044388, 0104U008941, 0105U00856, 0106U012492, 0107U005325, 0107U005334, 0110U004754, 0013U006469, 0113U002592, 0114U003645 і 0115U003736.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота оформлена згідно з новими вимогами ДАК МОН України (наказ МОН України від 12.01.17 №40) та складається із анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», 5 розділів експериментальних досліджень, заключення, висновків, списку використаної літератури (включає 582 джерела, з яких 102 кирилицею та 480 латиною) та додаток 1. Дисертаційна робота добре ілюстрована і документована, містить: 138 рисунків, 73 таблиці і 2 схеми. Матеріали дисертації викладені на 440 сторінках, із них основного тексту – 302.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті. Основні результати дисертаційної роботи Струтинського Р.Б. викладені в 84 наукових працях, серед яких розділ у монографії, 41 стаття у міжнародних та вітчизняних фахових наукових журналах, 10 патентів України та 32 тез доповідей. Опубліковані праці свідчать про повноту викладення наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.

Автореферат повністю відображає основний зміст дисертації.

Дискусійні питання та зауваження. Дисертаційна робота Струтинського Р.Б. є науковим цілісним дослідженням, що вирішує комплекс важливих питань сучасної фізіології та медицини.

Разом з тим при ознайомленні з роботою у мене виникли деякі зауваження та запитання.

1. В авторефераті дисертації автор перераховує види використаних у

дослідженнях тварин (щурі, мурчаки, собаки), але чомусь не вказує їх кількість.

2. Чим обумовлена у даній роботі необхідність дослідження мітохондрій печінки, а не лише серця?
3. Чому застосовували дуже широкий діапазон доз флокаліну (0,01-1,5 мг/кг) і, разом з тим, вказані лише певні дози чи концентрації інших 4-х активаторів SUR-рецепторів К-АТФ-каналів: тіофлокаліну, ДіазоФм, ДіазоФп та діазоксиду?
4. У чому полягає причина майже вдвічі більшого вазодилататорного впливу флокаліну на коронарні артерії порівняно з артеріями системного руслу?
5. Незрозуміло, яким чином активація SUR-рецепторів флокаліном, як засвідчує автор, стимулює конститутивний синтез NO і водночас пригнічує індукцйбельний? Можливо, це безпосередній вплив флокаліну на активність ферментів cNOS і iNOS, а не через SUR-рецептори. До того ж, зміни й інших показників, зокрема, зменшення утворення супероксиду, дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, сечовини, автор пов'язує виключно з SUR-рецепторами К-АТФ-каналів.
6. За яким біохімічним механізмом стимуляція SUR-рецепторів може ще більше посилювати деградацію гему в кардіоміоцитах при ішемії-реперфузії серця?
7. На скільки прогнозованим було подібне до європейської, близьке до азійської та відмінне від африканської популяції поширення алельних поліморфізмів досліджуваних генів у мешканців України? Чи сприятимуть ці дослідження переходу в медичній практиці від нині розповсюдженого у світі підходу лікування хворих за жорстким «протоколом» до індивідуального?
8. Незважаючи на дуже важливу і цікаву інформацію, що міститься у висновках роботи, деякі з них, зокрема третій та сьомий, дещо обтяжливі за об'ємом.

Висловлені зауваження та запитання не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, вони мають лише дискусійний або уточнюючий характер.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Струтинського Руслана Борисовича «Механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів калієвих каналів» за актуальністю, своїм науковим та методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, науково-практичною значимістю основних положень повністю відповідає всім вимогам п.10 Постанови Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів» із змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015, № 1159 від 30.12.2015, № 567 від 27.07.2016, які висуваються до докторських дисертацій, і її автор, Струтинський Руслан Борисович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент:
професор кафедри фізіології та анатомії
Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
доктор біологічних наук, професор

П. І. Янчук

Підпис проф. П.І. Янчука засвідчую

Вчений секретар
Науково-дослідної частини
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка

ПІДПИС
ВЧЕНОГО
КАРАУЛЬНА
dr 5.



Н.В. Караульна