

Рецензія

провідного наукового співробітника відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, доктора біологічних наук Струтинського Руслана Борисовича на дисертаційну роботу

Меженського Олега Руслановича

«Вивчення ролі PPAR-gamma в регуляції ендотелійзалежних реакцій аорти щура в нормі та при діабеті 2 типу»,

представлену на спеціалізовану вчену раду ID 6326 Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертаційної роботи.

Незважаючи на велику кількість досліджень сигнальних шляхів та регуляторних механізмів активності рецепторів, їх взаємодії в механізмах регуляції тону судин досі залишаються недостатньо дослідженими. Вивчення взаємодії різних вазоактивних сполук, їх однонаправленої дії, підвищення активності, чи різнонаправленої дії, та, відповідно, пригнічення їх ефектів безперечно є актуальним напрямком досліджень. Важливим є вивчення сигнальних шляхів і регуляторних механізмів на різних ділянках судинного русла. Відомо, що за певних захворювань реактивність судин може змінюватися, та ж артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, порушують ендотелій залежні вазодилаторні реакції.

Отже, вважаю, що дисертаційна робота Меженського Олега Руслановича «Вивчення ролі PPAR-gamma в регуляції ендотелійзалежних реакцій аорти щура в нормі та при діабеті 2 типу» безперечно є актуальною.

Наукова новизна отриманих результатів, теоретичне та практичне значення дослідження.

Дисертаційна робота Меженського О.Р. безперечно має наукову новизну. Вперше вивчено кількісний внесок різних сигнальних шляхів у ацетилхолін-індуковане розслаблення аорти. Показано кількісний внесок ефектів міоендотеліальних контактів та KIR каналів у реалізацію ефекту EDHF, та кількісний розподіл внесків кальцій-залежних калієвих каналів SK та IK у TRPV4 залежне розслаблення. Ці результати дають комплексне розуміння значимості внесків ендотелій-залежних компонентів регуляції судинної стінки. Всі ці ефекти також були показані на препаратах ізольованих судин при цукровому діабеті.

Проведено комплексне дослідження впливу на ці сигнальні шляхи та їх кількісні характеристики активації PPAR- γ , та було висунуте припущення про вплив агоніста PPAR- γ росіглітазону на гуанілат-циклазу, яка є важливою ланкою ацетилхолін-індукованої ендотелій залежної вазодилатації судин. Також в роботі вперше досліджено відмінності між проксимальним та дистальним відділом аорти щура на рівні експресії генів. Методом молекулярного докінгу було виявлено здатність росіглітазону неспецифічно зв'язуватися з гуанілатциклазою, та двопородоменними калієвими каналами TWIK та TRAAK.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає в новій корисній інформації для дослідників фармакологічного та медико-біологічного профіля, оскільки стосується механізмів впливу на судинний тонус та артеріальний тиск, дослідження реактивності судин при цукровому діабеті. Отримані результати можуть бути корисними при розробці нових лікарських засобів.

Теоретичне значення дослідження полягає у використанні отриманих під час виконання дисертаційної роботи результатів для подальших наукових досліджень та введення нового матеріалу у спецкурси для навчання студентів відповідного профілю.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків дисертаційної роботи.

Дисертантом було опрацьовано та критично оцінено наявні в науковій літературі дані щодо тематики дослідження. Отримані результати та зроблені висновки цілком обґрунтовані, оскільки були отримані на достатній кількості клінічного матеріалу із застосуванням сучасних та адекватних методів дослідження. Зокрема, Олег Русланович використовував такі сучасні методи дослідження як біоінформатичний аналіз даних РНК секвенування, аналіз головних компонент, аналіз диференційної експресії генів у різних ділянках аорти з використанням нормалізованих та розріджених матриць експресії, тензометричні вимірювання напруження ізольованих препаратів аорти. Представлені результати коректно статистично оброблені та надані в дисертаційній роботі з використанням табличного та ілюстративного матеріалу. Отримані автором результати піддані сучасному статистичному аналізу, зокрема, для статистичного аналізу отриманих даних використовувалося наступне програмне забезпечення ClampFit 8 та R 4.3. Для аналізу тензометричних даних першопочатково, записи були оброблені у ClampFit звідки були квантифіковані, та завантаженні в програмне середовище R. Для перевірки статистичної значущості у відмінностях між контрольними та дослідними групами, у випадку 2 груп був використаний T-тест Велча, через його невразливість до різниці у варіації, розмірах вибірки. У випадку, коли потрібно було

перевірити відмінності більш ніж, між 2 групами, був використаний аналіз варіації в модифікації Велча (Welch Anova) з поправкою Холма, що також є робастним до різниці у варіації, розмірах вибірки, та ненормальності розподілу. Для post-hoc аналізу, був використаний тест Тьюкі, задля визначення сили та напрямку відмінностей. Також у ході аналізу був використаний тест Колмогорова-Смірнова задля перевірки характеру розподілу.

В ході роботи дисертантом було проаналізовано 256 літературних джерел, були коректним чином поставлені задачі та відповідна мета роботи. Використані методи в роботі дозволили детально визначити внески компонентів ацетилхолін-індукованого розслаблення, визначити неспецифічні ефекти росіглітазону на серцево-судинну систему. Не менш важливими були висновки щодо відмінностей у функціонуванні проксимальної та дистальної частини грудної аорти які були підтвержені результатами аналізу диференціальної експресії та тензометричними експериментами.

Зв'язок роботи з державними науковими програмами, темами, планами
Дисертаційна робота виконана в рамках наукових програм відділу нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України «Іонні канали – рецептори фізико-хімічних впливів у регуляції збудження-скорочення вісцеральних м'язів у нормі та патології» (номер державної реєстрації 0118U007351) та «Іонні канали як мішені фармакологічного впливу» (номер державної реєстрації 0124U001683).

Структура, обсяг і повнота викладення матеріалів дисертації.

Дисертаційна робота оформлена згідно з новими вимогами ДАК МОН України (наказ МОН України від 12.01.17 №40) та складається із анотації, вступу (що включає в себе глибокий аналіз сучасного стану проблеми на 24 сторінці), огляду літератури, матеріалів і методів дослідження (які містять детальне викладення методології роботи, та матеріалів використаних в ході роботи викладені на 23 сторінках), розділу результатів та їх обговорення, що містить 5 підрозділів (які включають в себе докладне викладення усіх отриманих в ході роботи результатів, викладених на 49 сторінках), розділу аналізу й узагальнення отриманих результатів (викладене на 10 сторінках), висновків та списку використаної літератури (використано 256 літературних джерела). Використана в дисертаційній літературі є сучасною та логічно пов'язаних з темою роботи. Дисертаційна робота добре ілюстрована і документована, містить: 19 рисунків і 10 таблиць. Матеріали дисертації викладені на 160 сторінках, із них основного тексту – 119.

Опрацьованість літературних джерел.

Меженський О.Р. ґрунтовно ознайомився з достатньою кількістю сучасних літературних джерел, які переважно належать до останніх років досліджень, про що свідчить огляд літератури. Більш ранні роботи належать лише до основних фундаментальних досліджень. Під час підготовки та написання дисертаційної роботи опрацьовано 256 наукових публікацій з досліджуваної проблеми.

Відповідність встановленим вимогам щодо оформлення

Представлена дисертаційна робота є завершеною науковою працею, написана за традиційною схемою. Дисертація написана українською мовою на 160 сторінках, складається з анотації, змісту, вступу, списку умовних скорочень, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділу результатів та їх обговорення, що містить 5 підрозділів, розділу аналізу й узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури.

Викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях.

Результати дисертаційної роботи опубліковані у 2 наукових статтях. Одна стаття у Фізіологічному журналі (Київ, Україна), інша в *Physiological Reports* (США). Обидва журнали індексуються в науково-метричній базі даних Scopus, і за класифікацією Scimago Journal & Country Rank відносяться до IV і II кuartилів відповідно, що повністю відповідає вимогам присудження наукового ступеня доктора філософії. Результати були також апробовані виступами на 5 фахових конференціях, включаючи дві українські та три міжнародні.

Академічна доброчесність

Робота Меженського О.Р. пройшла перевірку на плагіат, що підтверджує дотримання автором принципів академічної доброчесності.

Запитання до дисертанта.

1. Є декілька методів задання базального (робочого) напруження ізольованим судинним смужкам в експерименті перед вимірюваннями. Це максимальні відповіді ізольованого препарату судини на вазоконстриктор, зазвичай, норадреналін 10^{-5} моль/л, напівмаксимальні ефекти судинного препарату, прив'язка базального напруження до атмосферного тиску і до середнього артеріального тиску тварини. Скажіть, будь ласка, чому ви вибрали саме метод, де базальне напруження препарату аорти приблизно дорівнювало тиску в кров'яному руслі 100 мм рт ст?

2. Чому саме тиск в кров'яному руслі 100 мм рт ст. відповідав прикладанню до ізольованого препарату аорти сили 1 мН?
3. Чому для створення цукрового діабету (ЦД) використовували саме стрептозотонин? А не, наприклад, аллоксан?
4. Яким чином введення нікотинаміду може запобігати стрептозотонин індукованому пошкодженню β -клітин підшлункової залози?
5. Що Ви можете сказати про участь у досліджених сигнальних шляхах вазодилатації аорти АТФ-чутливих калієвих каналів, адже NO, простагліциклін, кальцитонін ген зв'язаний пептид, ендотелій залежний гіперполяризуючий фактор (EDHF) можуть опосередковано активувати ці канали. До активації цих каналів також може бути залучена гуаніла-циклаза через активацію протеїн кінази G. Чи існує зв'язок активації TRPV4 з АТФ-чутливими калієвими каналами?

Зауваження до дисертації.

1. Є зауваження до оформлення роботи: заголовки розділів мали б відрізнятися від інших заголовків (підрозділів, пунктів, підпунктів), «Список умовних скорочень» має бути до «Основної частини» дисертації, тобто до «Вступу», правила оформлення рисунків у дисертації допускають, що на кожен рисунок є посилання з проставленням **номера розділу й номера рисунка** через крапку.
2. До дисертації є певні стилістичні зауваження, а саме, назва пункту 3.1 – «Тваринні експерименти», потрібно «Експерименти на тваринах». Чи вислів «обґрунтоване припущення».
3. Не потрібно вказувати, що тваринам проводили декапітацію, чи яким чином їх умертвляли. Потрібно просто вказати, що тварину вивели з експерименту на такому-то етапі.

Проте висловлені зауваження не знижують якість роботи, не мають принципового характеру, не стосуються концепції та висновків дисертаційного дослідження і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Загальний висновок.

Дисертаційна робота Меженського Олега Руслановича «Вивчення ролі PPAR- γ в регуляції ендотелійзалежних реакцій аорти щура в нормі та при діабеті 2 типу», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, науковим та методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, обсягом виконаних досліджень, змістом та

оформленням повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, вимогам до опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України № 1220 від 23 вересня 2019 року, вимогам щодо оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та відповідає напряму наукових досліджень освітньо-наукової спеціальності 091 «Біологія» третього освітньо-наукового рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія», а її автор, Меженський Олег Русланович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент

Провідний науковий співробітник відділу
загальної та молекулярної патофізіології
Інституту фізіології імені О.О. Богомольця
НАН України

Доктор біологічних наук



Руслан СТРУТИНСЬКИЙ

