

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу **Меженського Олега Руслановича**

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

що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» до спеціалізованої вченої ради ID 6326 Інституту фізіології ім. О. Богомольця

Актуальність теми

Регуляція судинного тонусу є важливим і складним процесом, який залежить від безлічі біологічних молекул і метаболітів, що можуть впливати на різні складові судинної стінки (м'язові, ендотеліальні клітини). Хоча більшість компонентів ендотелій-залежного розслаблення вивчають досить давно, порушення того чи іншого компонента за прогресування певного патологічного стану може бути мішенню для терапевтичної корекції. PPAR – родина транскрипційних факторів, для яких чітко показано роль в регуляції ліпідного метаболізму. Однак, є відомості про їх в важливу участь в регуляції тонусу судин. Діабет та метаболічні розлади лишаються суттєвою медичною проблемою у всьому світі. Хоча методологія корекції діабетичних станів, є добре розвиненою для багатьох популярних антидіабетичних препаратів, були показані негативні серцево-судинні ефекти. Серед таких препаратів є тіазолідиндіони – активатори рецепторів родини PPAR, які до 2011 року широко використовувалися як антидіабетичні препарати, однак, були заборонені до використання через ряд негативних побічних ефектів. Тому дослідження ефектів активації PPAR та неспецифічних ефектів їх лігандів зокрема і в регуляції тонусу судин є важливим медико-біологічним завданням, а дану дисертаційне дослідження –вкрай актуальним.

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).

Наукова новизна

За допомогою біоінформатичного аналізу транскриптомного сиквенсу вперше показано суттєво більшу експресію генів, що кодують білки, асоційовані із вазодилатацією, зокрема *kcnj14*, *casna1d*, *tuba1*, *gucyla1/b1*, *myo7d*, *myl6*, у дистальному відділі грудної аорти порівняно із проксимальним. Ці результати підтверджують виявлену у тензометричних дослідках більшу ступінь розслаблення дистального відділу грудної аорти порівняно із проксимальним і, відповідно, обґрунтовують їх фізіологічно-функціональне значення в організмі. Детально проаналізовано вклад різних компонентів (K^+ -канали, EDHF, NO, Ca^{2+} -канали, простагландини) в реалізацію механізму ацетилхолініндукованого розслаблення фрагментів аорти. Проведене комплексне дослідження впливу активатора PPAR росіглітазону на ендотелій-залежне розслаблення в нормі та за умов моделювання цукрового діабету 2 типу, що додає певний внесок у загальну картину розуміння серцево-судинних ефектів тіазолідиндіонів. За допомогою моделювання молекулярного докінгу було показано можливість лігандів PPAR зв'язуватися із такими молекулами як TRPV4, двома типами K^+ -каналів (TWIK і TRAAK). Вперше сформульоване припущення, про те що росіглітазон здатний на пряму активувати гуанілатциклазу, що підтверджується як результатами аналізу молекулярного докінгу, так і тензіометричними експериментами.

Аналіз наукового підходу та ступеню обґрунтування висновків

Дисертаційна робота Меженського О.Р. є повноцінним науковим дослідженням, містить коректний аналіз проблеми, сформульовану мету та завдання, детально викладені результати з коректними висновками, що робить обговорювану роботу завершеною, однак з перспективами для продовження дослідницької роботи. Робота виконана на високому сучасному методологічному рівні із дотриманням сучасних світових тенденцій у біологічній науці. Зокрема автор залучає біоінформатичний аналіз транскриптомного сиквенсу, доступного у відкритих базах даних, що є оптимізацією наявних ресурсів, значно зменшуючи таким чином кількість коштів, витрачених на дослідження, і експериментальних тварин, що є прикладом дотримання концепції 3R (reduce, refine, replace – зменшити кількість, запобігти стражданню, замінити досліди на тваринах). Автором роботи було проаналізовано 256 джерел. В роботі використано вірний методологічний підхід, а саме встановлення кількісних та якісних ефектів активаторів PPAR, крім того додатковою цінністю роботи є використання комп'ютерних симуляції для підтвердження практичних висновків, отриманих із експериментальних досліджень. Ще однією з переваг роботи є якісний статистичний аналіз отриманих результатів, що дозволяє зі впевненістю стверджувати про достовірність

отриманих результатів та про відтворюваність експериментів. Використані методи дали можливість сформулювати висновки стосовно впливу активатора PPAR-gamma росіглітазону на компоненти ацетилхолініндукованого розслаблення аорти, як цей вплив змінюється при діабеті 2 типу, його здатність неспецифічно активувати інші сигнальні шляхи, а також відмінності у функціонуванні різних ділянок грудної аорти щура враховуючи різницю у експресії. Винесені на захист положення ґрунтуються на аналізі матеріалів власних досліджень, характеризуються науковою новизною і пріоритетністю.

Структура, обсяг і повнота викладення матеріалів дисертації

Дисертаційна робота викладена на 160 сторінках. В огляді літератури автор детально аналізує відомості про регуляцію розслаблення аорти, компоненти цього процесу, канонічна роль PPAR-gamma в метаболічних процесах та неканонічні ефекти на серцево-судинну систему, разом з відомостями про ліганди PPAR-gamma. Також розглядаються відомості про залучення каналу TRPV4 у регуляцію судинного тонуусу та як діабет 2 типу здатний впливати на регуляцію розслаблення аорти. Список літератури є доволі сучасним та відповідає темі роботи. Усі необхідні розділи присутні у дисертаційній роботі та розташовані у логічній і коректній послідовності.

Результати, описані у дисертаційній роботі, опубліковані у 2 наукових публікаціях - 1 у фахових періодичних виданнях України та 1 у іноземних. Результати були також апробовані виступами на 5 фахових конференціях, включаючи дві українські та три міжнародні. Наявність протоколу біоетичного комітету зазначено у дисертаційній роботі. Таким чином, положення, що виносяться на захист, містять новизну, достовірність і в повній мірі представлені в наукових публікаціях.

Академічна доброчесність

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

Зауваження.

1. В роботі є невдалі вирази, зокрема вираз «спостерігали диференційну експресію» краще замінити на «різну експресію» або «градієнт експресії», «низлежачих» - на «низхідних».
2. В описі деяких рисунків треба додати п.
3. На рис.18, 29 та деяких інших, підпис «контроль» насправді не є «чистим» контролем, і має бути замінений із вказівкою тих сполук, які вводились.

4. З метою розвитку хибних уявлень у дисертанта, хотілось би прояснити момент з оксидом азоту при діабеті. Ще у 2003 році Сагачем та співав. з відділу фізіології кровообігу було показано, що за моделювання цукрового діабету порушується ендотелійзалежна складова ацетилхолініндукованого розслаблення судин, при цьому зменшувалась активність ферментів конститутивного синтезу оксиду азоту (PMID: 14509924). Власне, погіршення NO-залежної складової спостерігав і сам дисертант. Тому, висновок, зроблений автором, що «внесок NO у амплітуду розслаблення [при діабеті] зріс до 65% з 38% у контролі» є дещо не коректним (Обговорення, п.5.3). Оскільки вцілому амплітуда ацетилхолініндукованого розслаблення судин при діабеті знижується, то в кращому випадку кількісно NO може не змінюватись, про що дисертант наводить посилання літератури (244, 246, 247), але ні в якому разі не збільшуватись.

Запитання

1. Чому ви називаєте вашу експериментальну модель «діабетом 2 типу»? Для моделювання діабету 2 типу в роботі використовувалась комбінація стрептозотоцину та нікотінамід, однак, для підтвердження моделі вимірювали тільки рівні глюкози. Чому не вимірювали інсулін, недостатність якого є обов'язковою для діабету 2 типу?
2. Чому для дослідження було обрано росіглітазон, якщо його було визнано шкідливим для застосування в клініці, а не телмісартан чи карвакрол?
3. Як змінюється експресія PPAR γ (чи інших ізоформ) в судинах в різних відділах аорти і при діабетичній патології, і чи могли б ці зміни пояснити різницю у відповіді судин на активатор PPAR γ ?
4. Як пояснити однакову ступінь зменшення розслаблення у проксимальному і дистальному відділах аорти за умов блокади калієвих каналів (барій+оубаїн), якщо згідно з результатами аналізу сиквенсу експресія останніх більша в дистальних відділах?

Висновок.

Зазначені зауваження не знижують якість роботи, не впливають на кінцевий результат. Дисертаційна робота Меженського О. Р. «**Вивчення ролі PPAR-gamma в регуляції ендотелійзалежних реакцій аорти щура в нормі та при діабеті 2 типу**», що подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії відповідає всім критеріям та стандартам, встановлених порядком присудження ступеню доктора філософії, як зазначено постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року, нормам публікації дисертаційних робіт за наказом

МОН України №1220 від 23 вересня 2019 року, а також вимогам до оформлення дисертацій за наказом за наказом МОН України №40 від 12 січня 2017 року. Її зміст та практичне значення повною мірою відповідають науковій спеціалізації 091 «Біології та біохімія» у межах освітньо-наукової програми «Біологія (біофізика, фізіологія людини та тварин, патологічна фізіологія)», що є частиною третього рівня вищої освіти Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, а її автор Олег Русланович Меженський заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія».

Рецензент:

Юлія Гошовська, к.б.н.,
Відділ фізіології кровообігу
Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України
goshovska@biph.kiev.ua.

