

## ВІДГУК

на дисертаційну роботу  
Портніченка Георгія Володимировича  
«Участь стеролрегуляторних білків (SREBP) у регуляції морфофункціонального стану серцево-судинної системи гіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти»,  
подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук  
(спеціальність 03.00.13 – Фізіологія людини й тварин)

### Актуальність.

Метаболічний синдром - мультифакторна патологія, що базується на порушенні ліпідного обміну внаслідок характерної західної дієти. Патології, що нині включають до метаболічного синдрому, зокрема ожиріння, діабет другого типу, артеріальна гіпертензія, широко вивчаються, водночас експериментальні моделі їх вивчення не охоплюють комплексного характеру порушень, що виникають при метаболічному синдромі. Не викликає сумніву, що вивчення метаболічного синдрому потребує комплексного підходу й дослідження впливу кількох факторів одночасно, а також створення відповідних моделей такого впливу. Це обумовило тематику дисертаційної роботи, яка присвячена дослідженню спільного впливу гіперхолестеринемії та артеріальної гіпертензії на стерол-регуляторні механізми у щурів.

Окремо слід зауважити, що складові метаболічного синдрому з недостатньо встановленою етіологією потребують проведення досліджень на молекулярно-генетичному рівні. Так, наприклад, есенціальна гіпертензія описується як захворювання з полігенетичною етіологією, саме тому дослідження потенційно задіяних у її розвитку генів є надзвичайно актуальним в контексті їх діагностики й лікування. У випадку мультифакторних патологій, таких як метаболічний синдром, встановлення молекулярних ланок порушень регуляторних процесів набуває особливої цінності. Стерол-регуляторні зв'язуючі білки (SREBPs) є сімейством факторів транскрипції, які регулюють ліпідний гомеостаз, контролюючи експресію ряду ферментів, необхідних для синтезу ендогенного холестерину, жирних кислот (FA), триацилгліцеролу і фосфоліпідів. В даній роботі, зокрема, робиться акцент на визначенні ролі SREBP1 та SREBP2 - за умов спонтанної артеріальної гіпертензії у щурів, яка є однією з відомих моделей есенціальної артеріальної гіпертензії людини.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дана робота виконувалася у відділі загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України в рамках НДР «Системні та молекулярно-генетичні дослідження механізмів розвитку гіпертрофії та недостатності серця» (№ 0110U004753) та «Генетичні та епігенетичні механізми регуляції вісцеральних функцій в нормі і при патології» (№ 0112U001477).

### **Новизна дослідження і отриманих результатів.**

Автором вперше досліджено одночасний вплив високохолестеринової дієти й артеріальної гіпертензії на роботу серцево-судинної системи. Показано, що вплив кожного з цих факторів погіршує показники кардіогемодинаміки, тоді як їх спільний вплив, навпаки, покращує функцію серцево-судинної системи, зокрема, відмічено покращення артеріальної жорсткості.

Вперше продемонстровані ультраструктурні ураження й гісто-морфологічні зміни стінки аорти за умов поєднаного впливу артеріальної гіпертензії й високохолестеринової дієти, які оцінено автором як перші стадії атеросклерозу.

Вперше оцінено молекулярно-генетичні зміни у регуляції ліпідного обміну у печінці й серці за умов артеріальної гіпертензії. Показано кореляційний зв'язок між експресією стеролрегуляторних генів, особливо в печінці, та зміною функціональних показників роботи серця.

Проведено аналіз і зроблено висновки стосовно змін в організмі під дією вищевказаних факторів. Отримані дані розширюють сучасні уявлення про метаболічний синдром, та розвиток окремих його патологій, пов'язаних з порушенням регуляції ліпідного обміну й артеріальної гіпертензії, розкривають окремі зміни у молекулярно-генетичній регуляції.

### **Практичне значення одержаних автором дисертації результатів.**

Практичне значення даної роботи полягає у створенні теоретичної бази для розробки більш ефективних методів профілактики й лікування патологій метаболічного синдрому, зокрема новітніх, що базуються на молекулярно-генетичних методах прогнозування ризиків й лікування захворювань. Також отримані дані можуть бути предметом впровадження в ряд медичних та біологічних дисциплін.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Отримані наукові результати й зроблені на їх основі висновки обґрунтовані достатнім обсягом експериментальних досліджень, з залученням кардіогемодинамічних, біохімічних, ультроструктурних, молекулярно-генетичних методів та статистичного аналізу отриманих даних. Досліди проведені *in vivo* на спонтанно-гіпертензивних і нормотензивних щурах за умов високохолестеринової дієти та відповідних групах порівняння. В якості визначення ролі стерол-регуляторних генів як спадкового фактора артеріальної гіпертензії оцінено вплив поліморфізму гена SREBF1 на розвиток есенціальної гіпертензії у дітей популяції України. Висновки роботи є логічними, аргументованими та базуються на отриманих результатах.

**Достовірність і новизна наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації.**

За темою дисертації автором опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 8 статтях у рекомендованих ДАК України фахових журналах та 9 тезах доповідей на конгресах, з'їздах, конференціях. Друковані праці відображають зміст дисертаційного дослідження. Основні положення роботи достатньо апробовані на конгресах, з'їздах та конференціях. Автореферат дисертації відповідає змісту, основним викладеним положенням і найважливішим результатам дисертаційної роботи.

**Загальна характеристика роботи.**

Дисертаційна робота оформлена згідно із загальноприйнятою структурою та складається зі вступу, огляду літератури, розділу опису матеріалів й методів досліджень, розділів опису отриманих даних, розділу їх аналізу й узагальнення, висновків, списку використаних джерел, що складається з 156 посилань. Робота викладена на 145 сторінках та проілюстрована 72 рисунками.

Огляд літератури присвячено детальному розгляду наукової проблематики в галузі досліджень ліпідного навантаження та артеріальної гіпертензії в контексті розвитку метаболічного синдрому, а також молекулярно-генетичній регуляції ліпідного обміну, та їх порушенням при розвитку різних патологічних станів.



В розділі матеріалів і методів ґрунтовно описано методики досліджень кардіогемодинаміки, рівню холестеринових фракцій в крові, морфо-гістологічних та ультраструктурних змін, молекулярно-генетичної регуляції, описано методику статистичного аналізу. Використані методи цілком відповідають поставленим меті та завданням дослідження.

В п'яти розділах результатів досліджень приведено основний масив даних отриманих в ході проведеної роботи. Показано суттєву різницю у реакції організму окремо на артеріальну гіпертензію й гіперхолестеринемію та при їх поєднаній дії. Третій розділ присвячено результатам досліджень кардіогемодинаміки, показники якої організовано за функціональною ознакою. В четвертому розділі показано зміни рівнів холестеринових фракцій в крові, а також дані гісто-морфологічних та ультраструктурних досліджень аорти щурів. В п'ятому розділі приведено дані по зміні експресії стерол-регуляторних генів в тканинах серця й печінки щурів. В шостому розділі приведено дані по експресії генів мішеней стерол-регуляторних генів, які свідчать про безпосередню активність в ядрі генів SREBF. Сьомий розділ присвячено дослідженням асоціації поліморфізму гену SREBF й виникненню есенціальної гіпертензії у дітей.

В розділі аналізу результатів досліджень приділено увагу питанням порушень ліпідного обміну, їх впливу на функціонування серцево-судинної системи, та ультраструктури стінки судин, особливості регуляції ліпідного обміну на молекулярно-генетичному рівні. Приведено гіпотетичну схему розвитку порушень за експериментальних умов.

Висновки роботи цілком відповідають завданням й ґрунтуються на отриманих результатах.

Можна зазначити, що дисертаційна робота Портніченка Г.В. є закінченою науковою працею, в якій отримані нові дані, які є актуальними та мають певну теоретичну та практичну цінність.

#### **Дискусійні положення та зауваження щодо дисертаційного дослідження.**

В процесі рецензування роботи виникли деякі зауваження та ряд запитань, які можуть бути предметом дискусії. А саме:

1. Чим можна пояснити дещо дивний позитивний вплив високо холестеринової дієти на кардіо-гемодинаміку спонтанно-гіпертензивних щурів? Тобто кетонова дієта це правильно і корисно?
2. Залишається неясною аномально низька величина кінцево-сistolічного тиску (110 мм рт. ст.?) у контрольних гіпертензивних щурів з артеріальним тиском більш 150 мм рт.ст.
3. Вважається, що гіперхолестеринова дієта не дуже ефективна для моделювання атеросклерозу у щурів. Чому Ви не скористались, наприклад, методом глушіння гена, що кодує аполіропротеїн Е?
4. Відомо, що холестерин-залежна регуляція генів відбувається при взаємодії двох транскрипційних факторів – SREBR-1 і Sp1. Чому роль саме Sp1 не розглядається у Вашій роботі?
5. Незрозуміло, навіщо в дисертації з'явилися дані про поліморфізм гена В у дітей з есенціальною артеріальною гіпертензією, тим паче, що ніяких відмінностей від здорових дітей виявлено не було.
6. У дисертації немає узагальнюючого висновку, хоча їм міг би бути дещо парадоксальний, але цікавий висновок про позитивний вплив гіперхолестеринової дієти на параметри серцево-судинної системи у щурів з генетично-детермінованою гіпертензією.
7. Робота має деякі технічні недоліки, зокрема, невдале розташування ілюстрацій на сторінках тощо. Ілюстрації з великими масивами даних могли б бути винесені в додаток. Є зауваження до якості статистичної обробки отриманих даних: а) достовірність відмінностей деяких даних, наведених у таблиці викликає сумніви (рядки 1,2, 3, 7, 8); б) величина кінцево-діастолічного тиску -  $1.3 \pm 1.7$  мм рт.ст., викликає подив; в) не існує такого терміну як гомоскедастичність (мабуть стилістична помилка). Є гомоскедастичність - однорідна варіативність значень спостережень, що виражається у відносній стабільності, гомогенності (однорідності) дисперсії випадкової помилки регресійної моделі. Тобто, явище, протилежне гетероскедастичності дисперсій. Що стосується критерію Геймса-Хоуела, то він розроблений саме для гетероскедастичних дисперсій, тобто неоднорідних; д) не ясно, навіщо порівнювалися групи 1 і 4, тобто здорові контрольні щури і SHR на гіперхолестериновій дієті. Цілком достатньо попарного порівняння - контрольних щурів з щурами на гіперхолестериновій дієті і SHR з тими ж тваринами, але на гіперхолестериновій дієті; е) не вказано також які були критерії оцінки нормального розподілу?

Висловлені зауваження та побажання не знижують теоретичної та практичної цінності отриманих даних і суттєво не впливають на в цілому досить високий рівень даної дисертаційної роботи.

### **Висновок**

На підставі вищевикладеного вважаю, що за критеріями актуальності, мети, повноти та адекватності методів проведеного комплексу досліджень, новизни і теоретичного значення одержаних результатів, аргументованості висновків, повноти представлення результатів у наукових публікаціях дисертаційна робота Портніченка Г.В. «Участь стерол-регуляторних білків (SREBP) у регуляції морфофункціонального стану серцево-судинної системи гіпертензивних щурів за умов високохолестеринової дієти» є закінченим науковим дослідженням, яке відповідає всім вимогам

«Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – Фізіологія людини й тварин.

Офіційний опонент –

завідувач відділу фармакології

клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії

ДУ «Інститут фармакології та токсикології

НАМН України»,

доктор медичних наук, професор



Соловійов А.І.

Підпис проф. Соловійова А.І. засвідчую:

Заступник директора з наукової роботи

ДУ «Інститут фармакології та токсикології

НАМН України», д.х.н..



Григор'єва Г.С..