

ВІДГУК

офіційного опонента член-кореспондента НАМН України, доктора медичних наук, професора Пархоменко Олександра Миколайовича 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. Дисертаційна робота Струтинського Р.Б. присвячена одному із важливих питань сучасної фізіології, патофізіології, медицини та фармакології – вивченню ендогенних механізмів захисту серця та збереження його функції при ішемії міокарда. Незважаючи на істотний прогрес у профілактиці та лікуванні серцево-судинних захворювань вони все ще залишаються основною причиною смертності населення у більшості країн світу, в тому числі і в Україні (до 67 %).

Одним із відомих ендогенних механізмів захисту міокарда від ішемії є активація SUR-рецепторів АТФ-чутливих калієвих каналів (K_{ATP} -каналів). Особливістю цих мембранних структур є їх властивість відкриватися у відповідь на значне зниження цитоплазматичного вмісту АТФ, що дозволяє розглядати їх в якості «метаболічного сенсора» клітини.

Незважаючи на те, що протекторна роль K_{ATP} -каналів остаточно доведена і їх вважають відповідними за антиішемічний захист, зокрема під час реалізації таких природних захисних феноменів, як ішемічне пре- і посткондиціювання, механізми їх кардіопротекторної дії досі залишаються мало дослідженими. Важливим також є вивчення поширеності алельних поліморфізмів генів, що кодують субодиниці K_{ATP} -каналів (Kir6.x, SUR-рецептори) та їх можливого значення в якості генетичних факторів ризику захворювань серцево-судинної системи.

З огляду на це дисертаційна робота Струтинського Р.Б., що присвячена дослідженню механізмів кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів

K_{ATP} -каналів клітинних мембран є актуальною, а отримані результати та висновки дослідження є вагомими для розвитку сучасної фізіології та патофізіології.

Наукова новизна, теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. В роботі представлено 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 викликає позитивні зміни кардіогемодинаміки і метаболічних процесів. Показано, що важливими механізмами кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда є:

- попередження реперфузійної вазоконстрикції коронарних судин, помірного зниження артеріального тиску та відносне 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.

Свідченням потужної антиішемичної дії активації K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії є блокада 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 клітинної мембрани та структури внутрішньоклітинних органел, зменшення контрактури міофіламентів, попередження деструкції мітохондрій та значного зменшення розміру експериментального інфаркту міокарда.

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

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 міокарда лівого шлуночка, його кінцево-систолічним та кінцево-діастолічним об'ємом. Водночас найбільші патологічні зміни за цих поліморфізмів мають носії гетерозигот.

Вперше показано, 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.

Найбільш сучасним методом персоніфікованої фармакотерапії захворювань людини є 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 Ile337Val, 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, є одним із механізмів декомпенсації серця, може бути використано в майбутніх медичних дослідженнях.

Результати роботи розкривають базисні засади одного із основних ендогенних механізмів захисту міокарда 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. Робота має практичний вихід в медицину – розроблений та підготовлений до клінічних досліджень новий вітчизняний міотропний спазмолітик та кардіопротектор «Флокалін».

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень і висновків, що сформульовані в дисертації. Дисертаційна робота Струтинського Р.Б. являє собою ґрунтовне цілісне дослідження та була проведена із застосуванням сучасних методів: молекулярно-генетичних, електрофізіологічних, морфологічних (набухання та окисне фосфорилування ізольованих мітохондрій), в тому числі дослідженнях на ізольованих неонатальних кардіоміоцитах, ізольованих судинних смужках, ізольованому

та перфузованому за Лангендорфом серці, дослідженнях кардіогемодинаміки на собаках *in vivo*, біохімічних дослідженнях.

Достовірність отриманих даних підтверджена застосуванням сучасного і добре підбраного математичного апарату для проведення сучасного статистичного аналізу. Отримані результати обробляли за методом варіаційної статистики за допомогою комп'ютерних програм "Excel 2000" та Origin 7.0, пакета статистичних програм SPSS Statistics 22.0. Статистичну значущість результатів молекулярно-генетичних досліджень оцінювали за тестом Харді-Вайсберга, критерію χ^2 та за різними моделями успадкування. Розподіл алельних поліморфізмів було перевірено тестом Колмогорова-Смирнова. Крім того, були використані такі тести, як тест Левена, One-Way ANOVA (аналіз дисперсії), тести Брауна-Форсайт та Велха, тест Tukey HSD (для мультимірних порівнянь).

Основні положення та висновки дослідження базуються на значній кількості експериментального матеріалу, сформульовані чітко і ясно та представляють собою логічне завершення роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота 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 та 11 тем-грантів.

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 має 1 додаток. 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 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 серйозним цілісним дослідженням, що вирішує комплекс важливих питань сучасної фізіології, патофізіології, медицини та фармакології.

Разом з тим в процесі ознайомлення з роботою виникли деякі зауваження та запитання. Серед зауважень слід відмітити те, що у тексті роботи (матеріали і методи), по окремих главах практично немає посилань на кількість тварин, які були залучені до того чи іншого експерименту. Тільки під час аналізу поліморфізму генів у хворих на інфаркт міокарда і хронічну серцеву недостатність кількість досліджуваних хворих стає очевидною.

Серед запитань виникли наступні:

1. Які механізми відповідають за триразове зростання оксигенації крові (і якої) на тлі стимуляції K_{ATP} -каналів у фізіологічних умовах?
2. Чому, на Ваш погляд, доведений у експерименті кардіопротектор і блокатор мітохондріальної пори циклоспорін А у кількох клінічних дослідженнях не довів своєї ефективності?
3. Яким чином призначався таблетований препарат в експерименті із перфузією ізольованого серця?
4. Чи є, на Вашу думку, можливість оптимальної стимуляції K_{ATP} -каналів в експерименті у спонтанно гіпертензивних щурів?
5. Чи рекомендували би Ви оцінювати поліморфізм генів, які кодують субодиниці K_{ATP} -каналів та експресію матричних РНК, для вибору стратегії лікування хворих на серцеву недостатність?

Висловлені зауваження та запитання не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Струтинського Руслана Борисовича «Механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів калієвих каналів», яка представлена на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – фізіологія людини і тварин, є завершеною самостійною науково-дослідною роботою, в якій наведено теоретичне узагальнення і розроблено нові наукові положення щодо реалізації кардіопротекторних ефектів активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на експериментальних моделях, сукупність яких можна кваліфікувати як розробку нових фармакологічних підходів до підвищення ефективності захисту міокарда під час ішемії та реперфузії. За актуальністю, своїм науковим та методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, науковою 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:

Завідувач відділом реанімації та інтенсивної терапії

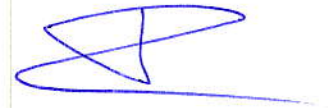
ДУ «Національний науковий центр

«Інститут кардіології імені

академіка М.Д. Стражеска» НАМН України»

член-кореспондент НАМН України,

доктор медичних наук, професор



О. М. Пархоменко

Підпис професора О.М.Пархоменка засвідчую:

