

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу О. В. Онопченко
“Нормалізація ліпідного профілю та відновлення чутливості до інсуліну
у тканинах інсулінорезистентних щурів за дії N-стеароїлетаноламіну”,
яка представлена на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.**

Поширення аліментарного ожиріння серед населення світу та пов'язане з цим формування інсулінорезистентності, як ключового патогенетичного чиннику цукрового діабету (ЦД) 2 типу, ставить вирішення проблеми фармакотерапії цього патологічного стану та відповідного класу захворювань на одну з пріоритетних позицій у сучасній медицині та системі охорони здоров'я.

Згідно з оцінками експертів ВООЗ, понад 80% випадків смерті через ЦД відбувається у країнах з низьким та середнім рівнем прибутку населення, до яких належить й Україна. Вітчизняні фахівці наголошують - за останнє десятиріччя поширеність ЦД у нашій країні стрімко зросла - з 1,8 до 2,8 %. За даними на 2012 рік, в Україні налічувалося 1 млн 264 тис. хворих на ЦД I та 2I типу. За твердженням вітчизняних ендокринологів, реальні цифри захворюваності та й смертності на ЦД в нашій країні ще вищі. Більше того, відсутні науково підтвержені дані, скільки саме пацієнтів вмирають щорічно від цукрового діабету. Вважають, що кожні сім секунд у світі діагностується 2 нових випадки діабету і одна людина помирає через ускладнення цієї хвороби.

Особливо складною є фармакотерапія діабету 2 типу, який також називають “діабетом дорослих”, хоча зараз він значно молодіє. При діабеті 2 типу властивість продукувати інсулін не втрачається повністю, але клітини організму поступово стає резистентними до інсуліну. Саме тому потрібно приймати цукрознижуючі препарати, які регулюють метаболічний стан організму та нормалізують обмін глюкози і жирних кислот або підвищують власне виділення інсуліну з підшлункової залози. Але така терапія допомагає

тільки на ранніх стадіях ЦД 2 типу. По мірі прогресування захворювання та загибелі все більшої частини клітин, що синтезують інсулін, виникає потреба в замісному введенні гормону так само, як і при цукровому діабеті 1 типу.

Згідно із сучасними науковими уявленнями, в основі розвитку інсуліно-резистентності лежать глибокі метаболічні порушення балансу обміну ліпідів, вуглеводів та амінокислот, яке виникає внаслідок надмірного споживання висококалорійних продуктів харчування. Наразі існує достатня кількість фармацевтичних препаратів, які підвищують чутливість до інсуліну, але в багатьох клінічних випадках вони є малоефективними або мають серйозні побічні ефекти.

Виходячи з цього, на сьогодні є важливим пошук нових біологічно активних сполук природнього походження, здатних відновлювати ліпідний обмін та чутливість до інсуліну тканин за умов розвитку аліментарного ожиріння та діабету 2 типу. Саме вирішенню цієї проблеми присвячена дисертаційна робота О.В.Онопченко, актуальність якої обґрунтовується усім вище зазначеним. Враховуючи мембранотропну дію насиченого представника N-ацилетаноламінів – N-стеароїлетаноламіну (NSE), яка полягає, насамперед, в корекції змін фосфоліпідного та жирнокислотного складу різних тканин за патологічних станів, автор поставила на меті дослідити вплив сполуки NSE на ліпідний склад печінки та підшлункової залози за експериментальної інсулінорезистентності та біохімічні реакції організму на введення інсуліну.

Для вирішення поставлених завдань автором було використано вдалу експериментальну модель інсулінорезистентності – аліментарне ожиріння, яка, на думку рецензента, найбільш близько, порівняно з генетичними моделями, відображає процеси природнього розвитку ЦД 2 типу у людини. В дослідженнях застосовано сучасні адекватні біохімічні методи досліджень, а саме методи ліпідології (газорідинна та тонкошарова хроматографія), імуноензимний аналіз, ензиматичні, колориметричні та спектрофотометричні методи.

Дисертація складається з вступу, огляду літератури, експериментальної частини, що включає опис матеріалів і методів дослідження і викладення

результатів дослідження та їх обговорення, заключення, висновків, списку літератури, що містить 232 джерела. Дисертація містить 8 таблиць, 13 рисунків та 3 додатки. Загальний обсяг дисертації становить 133 сторінки.

У вступі дисертантом сформульовані актуальність теми, мета та завдання дослідження, наукова новизна, теоретичне та практичне значення роботи.

В огляді літератури узагальнено описано основні патогенетичні фактори та механізми розвитку інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу за умов надлишкового споживання жирів. Представлена загальна характеристика та сучасні дані щодо механізмів біологічної дії мінорних сигнальних ліпідів N-ацилетаноламінів, описана їх ролі у регуляції енергетичного метаболізму. Зроблено акцент на особливостях біологічної дії насичених NAE, а саме N-стеароїлетаноламіну.

В третьому розділі дисертації наведено результати власних досліджень, а саме встановлено вплив NSE на ліпідний профіль печінки та підшлункової залози щурів за умов розвитку індукованої ожирінням інсулінорезистентності. Головний акцент зроблено на нормалізації фосфоліпідного та жирно кислотного складу досліджуваних тканин.

Особливо треба підкреслити, що дуже важливим надбанням роботи є встановлення факту відновлення за дії NSE чутливості до інсуліну та толерантності до глюкози периферійних тканин. Безумовно заслуговують на увагу і мають практичне значення отримані дані щодо впливу NSE на зниження вмісту вільних мононенасичених жирних кислот та триацилгліцеролів в плазмі крові, а також відновлення розподілу холестеролу у складі ліпопротеїнових фракцій плазми крові, що може мати місце у попередженні ускладнень ЦД 2 типу.

Мета та завдання дисертації.

Метою роботи – як вона сформульована дисертантом – було дослідити протекторну дію N-стеароїлетаноламіну на тканини печінки та підшлункової залози щурів за експериментальної інсулінорезистентності.

Для реалізації поставленої мети автором були поставлені наступні конкретні наукові завдання:

1. Відтворити в експерименті на щурах адекватну модель інсуліно-резистентності, яка б найбільш повно/близько відображала природні процеси розвитку цукрового діабету 2 типу. В якості такої моделі було обране аліментарне ожиріння, поєднане з ушкодженням острівкової частини підшлункової залози введенням стрептозотоцину.

2. Дослідити та оцінити вплив NSE на маркери розвитку інсуліно-резистентності, контрольований за тестами толерантності до глюкози, вмісту інсуліну в плазмі крові, рівнем глікозильованого гемоглобіну, значенням індексу HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment) у щурів з аліментарним ожирінням.

3. На моделі інсулінорезистентності, індукованої ожирінням, дослідити ефект сполуки NSE на ліпідний склад (вміст холестеролу, рівень індивідуальних фосфоліпідів та жирнокислотний склад різних ліпідних фракцій) печінки та підшлункової залози щурів. Вивчити вплив NSE на ліпідний профіль (відсотковий вміст вільних жирних кислот, триацилгліцеролів, рівень загального холестеролу та його вмісту у складі ліпопротеїнових фракцій) плазми крові щурів за інсулінорезистентності.

4. Дослідити ефект NSE на стан про/антиоксидантної системи (вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації протеїнів, активність основних ензимів антиоксидантного захисту) в печінці щурів за умов розвитку інсулінорезистентності.

Для вирішення поставлених наукових завдань автором були застосовані вже охарактеризовані вище сучасні методи біохімічних досліджень. Рецензент вважає, що вказані методи є повністю адекватними поставленим в дисертаційні роботі завданням.

В результаті проведених досліджень автором були отримані такі найбільш суттєві наукові результати:

1. Вперше доведено позитивний вплив насиченого $\text{NAE}_{18:0}$ —N-стеароїлетаноламіну – на основні маркери розвитку інсулінорезистентності у щурів з аліментарним ожирінням, а саме: толерантність до глюкози, вміст інсуліну в плазмі крові, рівень глікозильованого гемоглобіну, значення індексу HOMA (співвідношення добутку отриманих концентрацій глюкози та інсуліну до їх показників у нормі). Таким чином, вперше експериментально встановлено, що введення NSE супроводжується зростанням чутливості до інсуліну та толерантності до глюкози за умов розвитку експериментальної інсулінорезистентності.

2. Автором показано, що за дії NSE значною мірою нормалізується ліпідний склад тканин, а саме рівень індивідуальних фосфоліпідів в печінці щурів, що корелює зі зниженням вмісту інсуліну плазми крові та значенням індексу інсулінорезистентності HOMA. Відновлюється розподіл жирних кислот у складі різних ліпідних фракцій, що може бути пов'язано з впливом NSE на активність основних десатураз. Доведено, що застосування NSE спричиняє нормалізацію вмісту холестеролу та рівня основних класів фосфоліпідів підшлункової залози щурів за інсулінорезистентності.

3. Встановлено, що введення сполуки NSE підвищує активність ензимів антиоксидантного захисту та нормалізує вміст стабільного метаболіту оксиду азоту (NO_2^-) як в плазмі крові, так і в печінці щурів з експериментальною інсулінорезистентністю. Показано пригнічення утворення за дії NSE продуктів пероксидації ліпідів та окисної модифікації протеїнів, а також зниження рівня прозапального цитокіну ($\text{TNF}\alpha$) в сироватці крові щурів з розвинутою інсулінорезистентністю.

На підставі проведених досліджень автором робиться припущення, що нормалізація процесів ліпопероксидації в тканинах щурів з аліментарним ожирінням може мати певне позитивне відношення до корекції метаболічних зсувів у вуглеводному обміні за дії інсуліну.

Практичне значення роботи полягає у можливості подальшого вивчення NSE та близьких за структурою N-ацилетаноламінів в якості

потенційних лікарських засобів для фармакотерапії аліментарного ожиріння, діабету II типу та їх ускладнень.

Отримані автором результати повністю відображені у авторефераті та публікаціях (5 наукових статей та 8 тез доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях).

Основні зауваження та запитання до дисертації О.В.Онопченко.

1. У вступній частині дисертаційної роботи при обранні експериментальних моделей для дослідження недостатньо обґрунтовано належність використаної моделі саме до метаболічного синдрому та/або цукрового діабету II типу. Разом з тим, згідно з уявленнями останніх років, власне метаболічний синдром, що включає поєднання артеріальної гіпертензії, дисліпідемії, ожиріння й порушеної толерантності до глюкози, має суттєво відмінне від ЦД походження, і його молекулярні механізми скоріше пов'язані з порушенням чутливості мембранних рецепторів до гормональних білків лептину та греліну внаслідок мутацій в генах, що кодують відповідні білкові структури.

2. Автором недостатньо чітко сформульовані та обговорені біохімічні механізми, згідно з якими певна нормалізація ліпідного обміну в тканинах та/або зміни у складі та структурі мембранних фосфоліпідів при введенні піддослідним щурам NSE можуть відновлювати біорегуляторні, сигнальні функції інсуліну. Це питання можливо додатково висвітлити та обговорити під час офіційного захисту дисертації.

3. Рецензент вважає, що зарано стверджувати про можливість використання NSE “в якості лікарського засобу для фармакотерапії аліментарного ожиріння, діабету 2 типу та їх ускладнень”. Таке клінічне застосування NSE можливе лише за умов створення відповідної фармацевтичної форми лікарського засобу та проведення спеціальних додаткових фармакологічних і токсикологічних досліджень як субстанції, так і лікарської форми згідно з міжнародними регуляторними нормами та чинним законодавством України.

Заключення

Дисертаційна робота О.В. Онопченко “Нормалізація ліпідного профілю та відновлення чутливості до інсуліну у тканинах інсулінорезистентних щурів за дії N-стеароїлетаноламіну”, яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія, є завершеною науковою працею, в якій одержані нові дані щодо біохімічних та компенсаторних властивостей N-стеароїлетаноламіну.

Робота відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №567 від 24 липня 2013 року, що пред'являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

**Завідувач відділу біохімічної фармакології
ДУ “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”
член-кореспондент НАМН України,
доктор медичних наук,
професор**

Ю. І. Губський

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ	
Підпис	<i>Ю. І. Губський</i>
Засвідчую	
Учений секретар	<i>К. Ф. [підпис]</i>
" " "	20 р.

