

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Коваленко Людмилы Васильевны о диссертационной работе Шрамко Юлианы Ивановны на тему «Механизмы формирования метаболического синдрома и возможности патогенетической коррекции с использованием концентратов полифенольных продуктов», представленной к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

### **Актуальность исследования**

Диссертационная работа Ю.И. Шрамко посвящена молекулярно-генетическим механизмам развития метаболического синдрома, а также его коррекции природными концентратами полифенолов. Автор сконцентрировала свое внимание на изучении воспалительных и свободнорадикальных механизмов, исходя из их ведущей роли в развитии метаболического синдрома. В настоящее время распространенность метаболического синдрома в мире на основании различных критериев его диагностики определяется от 10 до 84 %, в зависимости от географического региона. Основой развития метаболического синдрома является абдоминальное ожирение, которым страдают не менее 30 % трудоспособного населения России. Особенности висцеральных адипоцитов являются высокая чувствительность к липолитическому действию катехоламинов и низкая к антилиполитическому действию инсулина, а также способность к синтезу активных форм кислорода и различных провоспалительных медиаторов, что приводит к развитию синдрома системной воспалительной реакции и метаболического синдрома. Гипергликемия и развивающееся абдоминальное ожирение, через сложную систему взаимозависимостей между мембранными и ядерными рецепторами и вторичными посредниками, приводят к экспрессии множества генов, ответственных за синтез медиаторов воспаления, вызывающих повышение уровня свободных радикалов и

активности протеолитических ферментов, что ведет к интенсификации перекисного окисления липидов. Существенную роль в развитии каскада патогенетических процессов, развивающихся при метаболическом синдроме, отводят адипонектину и лептину.

Большое влияние на инсулинорезистентность, развитие ожирения и сопутствующей патологии оказывают полиморфизмы генов указанных адипокинов, вызывая большую предрасположенность к развитию основных патогенетических механизмов метаболического синдрома и его сердечно-сосудистых осложнений.

Лечение и профилактика метаболического синдрома представляет серьезные трудности ввиду серьезных побочных эффектов, высокой стоимости, неэффективности синтетических медикаментов и недостаточной их доступности для многих людей во всем мире. В связи с этим растет интерес к так называемым «функциональным продуктам питания» – обычной или повседневной пище, которая оказывает положительное влияние на целевую функцию (функции) за пределами питательной ценности / основного питания, потенциально снижает риск заболеваний и имеет разрешенные и научно обоснованные требования к здоровью. Исследованиями Шрамко Ю.И. установлено позитивное влияние полифенолов винограда при коррекции экспериментального метаболического синдрома, подтверждена их роль как функциональных продуктов питания при реабилитации больных с сердечно-сосудистыми осложнениями метаболического синдрома.

Учитывая все вышеизложенное, диссертационная работа Шрамко Юлианы Ивановны, посвященная обоснованию рекомендаций по применению полифенолов винограда в связи с данными по ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа и их кардиоваскулярными осложнениями, является актуальной и своевременной.

## **Научная новизна и теоретическая значимость работы**

В диссертационном исследовании Шрамко Юлианы Ивановны впервые проведен анализ морфологических, морфометрических, биохимических и генетических особенностей развития метаболического синдрома, приводящих к развитию ряда порочных кругов патогенеза, в которые оказываются вовлечены как нутриенты (глюкоза, свободные жирные кислоты), так и ряд транскрипционных факторов, вызывающих активацию генов, приводящих к нарушению транспорта и метаболизма пищевых веществ, накоплению липидов в адипоцитах и развитию ожирения. На новой модели метаболического синдрома впервые выявлены нарушения в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов, проявляющиеся в дислипидемии, ассоциированной с угнетением механизмов антирадикальной защиты и повышением концентрации маркеров острой фазы воспаления.

Избыток свободных жирных кислот в адипоцитах активирует TLR 4 и запускает сигнальные пути NF-κB, что вызывает секрецию целого ряда воспалительных медиаторов. Эти события запускают оксидативный стресс, перекисное окисление липидов, протеолиз и приводят к нарушению передачи инсулинового сигнала внутри клетки, что изменяет концентрации маркеров углеводно-липидного обмена. Нисходящий каскад передачи сигнала, вызванного активацией TLR4, завершается экспрессией множества целевых генов, кодирующих цитокины, хемокины, факторы роста, различные ферменты и другие медиаторы воспаления, в том числе промотор гена С-реактивного белка. Повышенное содержание провоспалительных медиаторов, обладающих прямым и непрямым повреждающим действием, приводит к усилению липолиза, повышению концентрации свободных жирных кислот и дальнейшему усилению каскада TLR4- NF- κB- PPARγ- воспалительные медиаторы, усугублению резистентности к инсулину и поражению органов-мишеней.

В связи с полученными результатами для обоснования рациональности использования полифенольных продуктов переработки винограда в коррекции метаболического синдрома путем тестирования *in vitro* было впервые установлено, что величина антиоксидантной активности в единицах тролокса возрастает по мере увеличения концентрации полифенолов в продукции, что совпало с данными спектрального анализа и результатами биологического тестирования. Более высокое содержание антиоксидантов в исследуемых образцах приводило к более сильному ингибированию бактериальной биолюминесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Таким образом, полифенольные продукты переработки винограда являются продукцией с высокой антиоксидантной активностью, что делает их перспективными продуктами функционального питания, с возможным применением как комплекса, влияющего на ключевые механизмы формирования метаболического синдрома – дисбаланс про-и антиоксидантов.

Впервые для коррекции метаболического синдрома был применен препарат «Фэнокор», имеющий сложный состав и высокую антиоксидантную активность. Он позволил эффективно транспортировать глюкозу внутрь клетки и препятствовал синтезу и накоплению жирных кислот, вызывал модуляцию PPAR $\gamma$  без побочных эффектов, свойственных его синтетическим агонистам, что приводило к снижению концентрации С-реактивного белка, уменьшению перекисного окисления липидов и усилению антирадикальных защитных механизмов.

Положительное влияние полифенольных препаратов было подтверждено также данными обследования пациентов после завершения комплекса санаторно-курортного лечения. У исследуемых больных наблюдалось снижение интенсивности перекисного окисления липидов, проявлений системного воспаления и нормализация антиоксидантной защиты.

При клинико-генетических исследованиях были впервые выявлены ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с развитием основных патогенетических звеньев метаболического синдрома.

### **Практическая значимость**

Результаты экспериментальных и клинических исследований легли в основу создания методических рекомендаций по дополнению технологии санаторно-курортной реабилитации комплексом ампело- и энотерапии при комплексной реабилитации больных метаболическим синдромом и его гемодинамических осложнений – ишемической болезни сердца и гипертонической болезни.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Достоверность и обоснованность сформулированных научных положений и выводов подтверждена высоким научно-методическим уровнем выполнения диссертационной работы. В эксперименте проведено исследование образцов тканей и крови 60 белых крыс-самцов линии Wistar с моделированным метаболическим синдромом и при его коррекции полифенольными продуктами.

Для анализа ассоциации полиморфных маркеров генов лептина, *ADIPOQ*, *ADIPOR1* и *ADIPOR2* с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа и их кардиоваскулярными осложнениями использовалась сыворотка крови 100 пациентов с установленным диагнозом «сахарный диабет 2 типа» и 100 условно здоровых субъектов, соответствовавших критериям включения.

Для клинического исследования использования полифенольных продуктов переработки винограда в комплексе санаторно-курортного лечения больных было отобрано 259 больных, поступивших на санаторно-курортное лечение в государственное унитарное предприятие Республики Крым «Санаторий «Ай-Петри».

Для тестирования биологической и антиоксидантной активности использовали пищевые концентраты полифенолов из винограда сортов "Каберне-Совиньон", "Саперави", "Мерло", произведенные в Крыму и на Кубани, полученные от производителей, урожая 2014 г.

В работе приведены результаты анализа данных гистологического, морфометрического, электронно-микроскопического и биохимического исследования, а также данных качественного и количественного состава полифенолов и результатов ПЦР-исследования. Дизайн исследования грамотно спланирован, группы сравнения составлены корректно.

Полученные результаты подвергнуты корректной и адекватной статистической обработке, базирующейся на современных биоинформационных принципах. Применяемые автором методы исследования являются целеопределяющим и достаточными для получения информации по решению сформулированных в работе задач.

Результаты работы Шрамко Юлианы Ивановны неоднократно обсуждены на конгрессах и форумах, в достаточной степени представлены широкому кругу исследователей в 9 публикациях в журналах, индексируемых базой «Scopus» и «Web of Science», а также в 11 публикациях в изданиях действующего Перечня журналов, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Отдельные положения, вошедшие в диссертационное исследование, внедрены в обучающие программы на кафедре общей и клинической патофизиологии Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» КФУ имени В.И. Вернадского. Результаты клинической части исследования используются в работе лечебных учреждений, в том числе в стоматологической клинике «Зубы без боли» ООО «Медэксперт».

### **Структура работы**

Диссертация изложена на 326 страницах компьютерного текста, состоит из введения, главы, посвященной обзору литературы, главы с

описанием материала и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 436 отечественных и иностранных источников. В диссертации представлены 62 рисунка и микрофотографии, 61 таблица.

Выводы соответствуют поставленным задачам и полностью отражают результаты выполненного исследования. В выводах диссертант формулирует выявленные закономерности изменений в механизмах внутриклеточного метаболизма жирных кислот и обмена адипоцитов, формирования дисбаланса между накоплением продуктов перекисного окисления липидов и антиоксидантами, описывает ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с развитием основных патогенетических звеньев метаболического синдрома в крымской популяции. На основании исследований *in vitro* и клинических испытаний автором подтверждается полученное в эксперименте положение о том, что потенциал интегральной функциональной активности полифенольных продуктов переработки винограда соответствует суточной дозе потребления полифенолов 10 мг/кг массы тела при комплексной реабилитации больных метаболическим синдромом и его гемодинамическими осложнениями – ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью, что полностью обосновывает дополнение технологии санаторно-курортной реабилитации комплексом ампело- и энотерапии.

Практические рекомендации отражают полученные в диссертационной работе данные, которые можно применить в клинической практике для оптимизации санаторно-курортного лечения метаболического синдрома, а также повышения эффективности стандартной терапии его осложнений и улучшения качества жизни пациентов.

Список литературы полный и составлен по библиографическим правилам. Автореферат написан хорошим литературным языком и содержит достаточное количество иллюстративного материала (рисунков, таблиц), облегчающих его восприятие. Автореферат отражает все необходимые

разделы диссертационной работы и оформлен в соответствии с предъявляемыми требованиями.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет. Встречающиеся в работе опечатки и некоторые стилистические погрешности не влияют на основное содержание диссертации и не снижают ее значимости. Работа, безусловно, интересна и полно раскрывает особенности патофизиологических механизмов формирования метаболического синдрома и обосновывает его возможность его патогенетической коррекции концентратами полифенольных продуктов.

При ознакомлении с диссертационной работой возник ряд вопросов уточняющего характера:

1. Почему Вы изучали только перечисленные генетические полиморфизмы? Имеют ли они такое же патогенетическое значение для развития метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа в других популяциях?
2. Известно, что лечение ИБС и гипертонической болезни имеет длительный характер. Исходя из этого, проводилась ли Вами оценка проводимой терапии у больных, и как Вы исключили возможность накопительного действия лекарственных веществ на исследуемые показатели?
3. Применялись ли Вами индексы оценки оксидативного стресса при метаболическом синдроме? Коррелировали ли они с клиническими параметрами у пациентов?
4. При клинико-генетических исследованиях выявлены ассоциации некоторых однонуклеотидных полиморфизмов с развитием основных патогенетических звеньев МС в крымской популяции. Возникает вопрос, почему не проводился стандартный корреляционный анализ или взаимосвязь удалось подтвердить комплексом других данных?

5. Проведено ли сравнение оригинальной модели, использованной в исследовании, со стандартными моделями МС?

6. В клиническом фрагменте работы при проведении исследования, какой вариант контроля использован? Использовалась ли рандомизация?

Некоторое редакционное замечание: фрагмент «Впервые применен экспериментальный полифенольный концентрат с высоким содержанием полифенолов – «Фэнокор» и экспериментально показаны его гипогликемический, гиполипидемический, противовоспалительный и кардиопротективный эффекты в терапии МС *in vivo*.» был бы более уместен в разделе «Научно-практическая значимость исследования».

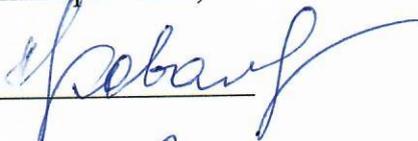
**Заключение.** Диссертационная работа Шрамко Юлианы Ивановны «Механизмы формирования метаболического синдрома и возможности патогенетической коррекции с использованием концентратов полифенольных продуктов», является самостоятельной законченной квалификационной работой, в которой предлагаются принципиально новые патогенетически обоснованные подходы к профилактике и лечению метаболического синдрома. Внедрение результатов исследования позволит интегрировать междисциплинарный подход в клиническую практику врачей эндокринологов и потенциально — кардиологов. Новые сведения о роли транскрипционных факторов и рецепторных посредников в развитии и прогрессировании воспалительного процесса при метаболическом синдроме, полученные автором работы имеют существенное научное и практическое значение для патологической физиологии и медицины в целом.

По научно-практической значимости и новизне полученных результатов и положений диссертационная работа Шрамко Юлианы Ивановны полностью соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями от 21 апреля 2016 г. №535) в части требований, предъявляемых к диссертациям на

соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальности: 3.3.3. Патологическая физиология.

**Официальный оппонент:**

заведующий кафедрой патофизиологии и общей патологии  
Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-  
Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский  
государственный университет»,  
д.м.н., профессор



Л.В.Коваленко

«17» февраля 2023 г.

Адрес: 628412, Ханты-Мансийский автономный  
округ – Югра, г. Сургут, пр. Ленина, д. 1  
Тел: +7(3462)76-30-50; +7(908) 884-64-76  
Эл.почта: kovalenko\_lv@surgu.ru  
Сайт: <https://www.surgu.ru>

Подпись Коваленко Людмилы Васильевны заверяю:  
Ученый секретарь Ученого Совета  
доктор биол.наук., доцент



В.В.Козлова

«17» февраля 2023 г.