

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, завідувача кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України Денефіль Ольги Володимирівни на дисертаційну роботу Романенко Ірини Володимирівни на тему: «Механізми ушкодження тканин печінки й нирок за експериментального гострого алкогольного ураження та шляхи метаболічної корекції», подану в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.113, створену згідно з рішенням вченої ради Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України, наказ № 204 від 29.12.2023 року на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина

1. Актуальність теми дослідження. Актуальність дослідження зумовлена тим, що надмірне вживання алкоголю є провідним фактором ризику смерті в Європі, оскільки може викликати більше 200 патологічних станів, у тому числі хронічні захворювання. Насамперед страждає печінка: за поширеністю і соціальною значимістю етанолове пошкодження печінки є на другому місці після її ураження вірусами. Порушення функції нирок є поширеним явищем при надмірному впливі алкоголю і пов'язане майже з усією смертністю госпіталізованих пацієнтів з важким алкогольним гепатитом. Факторами, що відіграють основне значення у пошкодженні клітин печінки та нирок і цілого організму етанолом є надмірне утворення вільних радикалів та окисний стрес, запалення, апоптоз, порушення ліпідного обміну, фіброгенез та інші. Враховуючи патогенез розвитку алкогольної хвороби для корекції патологічного процесу доцільно використовувати кверцетин, який зменшує оксидативний стрес, порушення мікроциркуляції, має антиагрегантну дію, зменшує розвиток некрозів, ішемію, гіпоксію, ендотеліальну дисфункцію. Відомо, що інсуліноподібний фактор росту регулює процеси регенерації, апоптозу, проліферації клітин печінки та нирок, активує протеосинтез та ліполіз і зменшує чутливість рецепторів до інсуліну в печінці, стимулює клубочкову фільтрацію, реабсорбцію води, йонів натрію, фосфат-аніонів та синтез кальцитріолу в нирках, має антиоксидантну та цитопротекторну дію.

Значну роль у регуляції функції печінки та нирок має гідроген сульфід, оскільки він виявляє антиоксидантну, цитопротекторну, мембраностабілізуючу, вазодилататорну, антиагрегантну властивості, збільшує чутливість рецепторів печінки до інсуліну, стимулює процеси фільтрації та реабсорбції в нирках, регулює основно-лужний баланс. Пошук однонаправлених механізмів їх впливу на організм є досить перспективним. Також у літературі зустрічаються поодинокі дослідження впливу кверцетину та донорів гідроген сульфиду при гострому алкогольному гепатиті на ланки патогенезу ураження печінки та нирок, що робить особливо актуальною тему дослідження.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача. Дисертаційна робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України та є фрагментом двох планових науково-дослідних робіт кафедри патологічної фізіології ім. М.І. Пирогова «Вплив гуморальних факторів на механізми розвитку патологічних процесів у печінці, спричинених дією екзо- та ендогенних чинників, та при їх корекції» (№ державної реєстрації 0116U007973, 2017-2021 рр.) та «Патофізіологічні та молекулярні механізми ураження внутрішніх органів за дії екзо- та ендогенних чинників та шляхи їх медикаментозної корекції» (№ держреєстрації 0123U101518). Здобувач була співвиконавцем даних наукових робіт.

Назва дисертаційної роботи повністю відповідає її змісту. Усі наукові положення, висновки та практичні рекомендації базуються на фактичних даних автора, є науково та об'єктивно обґрунтованими, чітко сформульованими, містять низку нових наукових положень, є логічним завершенням проведеного дослідження та відповідають меті і завданням роботи.

Застосовані при виконанні роботи методи дослідження адекватні поставленим завданням, високоінформативні та сучасні. Аналіз та статистична обробка цифрового матеріалу проведена з використанням сучасних комп'ютерних програм, що дозволило отримати переконливі, достовірні дані.

Наукові положення роботи повністю викладено у 16 наукових працях, із них 7 статей у фахових наукових виданнях України категорії Б (у тому числі одна – у виданні, віднесеному до наукометричної бази Web of Science), 1 стаття у фаховому періодичному іноземному виданні (Польща), 1 патент України на корисну модель, 7 тез у матеріалах наукових форумів. У наукових розробках, що висвітлені у працях, опублікованих спільно зі співавторами, участь здобувача є визначальною. У роботі не були використані ідеї та розробки, які належать співавторам опублікованих робіт. Результати дослідження були представлені на численних вітчизняних та міжнародних науково-практичних конференціях та з'їздах.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень. У результаті отриманих даних поглиблені уявлення щодо ролі сигнальних молекул IGF-1 та H_2S у реалізації токсичної дії етанолу на тканини печінки й нирок, а також у механізмах гепато- та нефропротекторних ефектів кверцетину й донору гідроген сульфїду.

Автором уперше встановлено, що гостре алкогольне ураження печінки та нирок супроводжується вірогідним зростанням у сироватці крові рівня IGF-1 та пертурбаціями метаболізму H_2S у тканинах, а саме формуванням дефіциту H_2S на тлі незміненої H_2S -продукуючої активності цистатіонін- γ -ліази та збільшення швидкості окиснювальної деградації H_2S .

Автором уперше з'ясовано, що на тлі гострого алкогольного ураження відмічаються порушення клітинного циклу в печінці та нирках: зростає активність апоптозу, збільшується частка клітин у синтетичній фазі та вірогідно не змінюється кількість клітин у постсинтетичній фазі та мітозі, розвивається блок проліферації, що супряжено зі зменшенням вмісту H_2S у тканинах і збільшенням сироваткового рівня IGF-1.

Виявлено, що алкоголь-індуковані патохімічні та гістологічні порушення в печінці та нирках, а саме виразність цитолізу гепатоцитів, холестазу,

жирового гепатозу, пошкодження каналцевого апарату нирок, запалення та оксидативний стрес, асоціюються зі змінами рівнів IGF-1 у сироватці крові та H_2S у тканинах.

Застосування метаболічних коректорів з різною ефективністю стримує розвиток патологічних змін в печінці та нирках. Використання кверцетину за гострого алкогольного ураження вірогідно не змінює виразність жирового гепатозу, не впливає на показник блоку проліферації клітин печінки й нирок та сироватковий рівень IGF-1, співставляється з NaHS за впливом на протеосинтез й активність цитолізу в печінці, а також поступається NaHS за протизапальною, антиоксидантною, антихолестатичною, тубулопротекторною активністю та впливом на систему H_2S .

Вперше показано, що використання кверцетину у поєднанні з NaHS за гострого алкогольного ураження забезпечує більш ефективну корекцію цитолізу гепатоцитів, холестазу, тубулярних розладів, запалення, оксидативного стресу, апоптозу та регенераторних процесів у печінці та нирках, що тісно асоціюється зі стимулюючим впливом на сигнальні системи IGF-1 та H_2S .

4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні. Наведені в роботі дані отримані в результаті дослідження достатньої кількості експериментального матеріалу (експеримент проведено на 116 статевозрілих щурах-самцях). Використана модель гострого алкогольного ураження печінки та нирок є адаптованою із високим ступенем відтворення. Вибраний препарат для корекції впливає на всі ланки патогенезу багатьох захворювань, у тому числі гострого алкогольного ураження печінки і нирок. Дослідження біологічного матеріалу проводили із застосуванням традиційних методів лабораторної діагностики (біохімічних, імуноферментних, цитофлуометричних, морфологічних) у сертифікованих лабораторіях Вінницького національного

медичного університету імені М.І. Пирогова. Виявлені порушення базувалися на дослідженні сироваткового рівня IGF-1, показників метаболізму гідроген сульфід (рівня H_2S , H_2S -синтезуючої активності цистатіонін- γ -ліази, швидкості утилізації H_2S), біохімічних маркерів оксидативного стресу і запалення та параметрів функціонування печінки й нирок, цитофлуориметричних досліджень показників клітинного циклу та фрагментації ядерної ДНК печінки й нирок, морфологічних досліджень структурної організації печінки й нирок щурів за експериментального гострого алкогольного ураження, а також на фоні застосування кверцетину, $NaHS$ та їх комбінації. Структурні особливості печінки та нирок відображають 14 мікрофотографій гістологічних зрізів, що забарвлені гематоксилином і еозином, суданом III. Здобувач провела ретельне опрацювання отриманих результатів на підставі статистичного аналізу цифрових даних за допомогою методів варіаційної статистики із застосуванням кореляційного аналізу на основі сучасних комп'ютерних програм.

Таким чином, сформульовані у дисертації наукові положення, висновки і практичні рекомендації є обґрунтованими, їх достовірність забезпечена достатнім обсягом дослідження за рахунок власних спостережень. Викладені в дисертації результати здобуті на фактичному матеріалі. П'ять висновків дисертації слідує з основного змісту роботи.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності. Дисертаційне дослідження виконано на високому науково-методичному рівні. Репрезентативність вибірки, висока інформативність використаних методів дослідження та адекватність статистичного аналізу дозволяють вважати, що отримані результати повністю відповідають поставленій меті та завданням, а висновки є достовірними і науково обґрунтованими. Автор фахово оволоділа методологією наукового дослідження та опанувала навички науково-дослідної роботи. Це дозволило

здобувачу обґрунтовано і достовірно формулювати положення наукового дослідження, виконати поставлене наукове завдання.

6. Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. Результати проведених досліджень розширюють сучасні дані щодо окремих ланок патогенезу гострого алкогольного ураження печінки та нирок, а саме ролі інсуліноподібного фактора росту 1 та системи гідроген сульфідів. Поряд з цим у роботі обґрунтовані нові підходи щодо метаболічної гепато- та нефропротекції за гострого алкогольного ураження: показано доцільність застосування донору H_2S з метою потенціювання гепато- та нефропротекторних властивостей кверцетину. Практичне значення результатів дослідження підтверджується патентом України на корисну модель (№ 108687).

Результати дисертаційної роботи впроваджені в науково-педагогічний процес кафедр медичної та біологічної хімії, патологічної фізіології, фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету; кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка, що підтверджено відповідними актами впровадження, які розміщені у додатку.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому. Дисертаційна робота Романенко Ірини Володимирівни є завершеною науковою працею, у якій представлено нове вирішення науково-практичного завдання в галузі медицини щодо комплексного встановлення ролі інсуліноподібного фактора росту та гідроген сульфідів в механізмах гострого алкогольного ураження

тканин печінки й нирок та, на основі отриманих результатів, обґрунтування нових підходів метаболічної гепато- та нефропротекції шляхом застосування кверцетину в поєднанні з донором гідроген сульфїду.

Робота побудована та оформлена згідно з чинними рекомендаціями, відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. Дисертація викладена на 191 сторінці машинописного тексту (з них 120 сторінок основного тексту) і складається з анотації, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел (усього 316 найменувань, з них 90 кирилицею, 226 – латиницею) та додатків. Робота проілюстрована 29 таблицями та 19 рисунками.

У **Вступі** висвітлюється обґрунтування вибору теми дослідження, сформульована мета, чітко поставлені завдання, представлені об'єкт і предмет дослідження, детально висвітлена наукова новизна, практичне значення отриманих результатів роботи, наведені відомості про апробацію та публікації матеріалів дисертації. Вступ викладений на 6 сторінках.

Розділ 1 «Сучасні аспекти патогенезу та метаболічної корекції токсичного впливу етанолу на печінку та нирки (огляд літератури)» складається із трьох підрозділів, у яких описані та узагальнені механізми токсичного впливу етанолу в цілому на організм, на печінку та нирки; детально описана роль гідроген сульфїду в механізмах ураження внутрішніх органів за алкогольної інтоксикації; охарактеризовано принципи патогенетичної терапії алкогольного ураження внутрішніх органів. Проведений аналіз літературних джерел свідчить про те, що у проведенні патогенетичної терапії важливе значення належить застосуванню ентеросорбентів, антиоксидантів, кверцетину. Залишається практично не вивченою роль сигнальної системи гідроген сульфїду у механізмах розвитку та фармакокорекції алкогольного ураження печінки і нирок. У кінці розділу автор наводить резюме, де зазначає невирішені питання. Розділ викладений на 21 сторінці.

У розділі **«Матеріали і методи дослідження»** представлено характеристику експериментальних моделей та груп тварин, дизайн дослідження, наведено детальний опис способу моделювання гострого алкогольного ураження печінки та нирок в експериментальних групах тварин, а також на фоні застосування кверцетину, натрію гідрогенсульфіду та їх комбінації, детально описано визначення біохімічних показників, імуноферментних, цитофлуориметричних і морфологічних, статистичних методів досліджень. Використані методи дослідження сучасні та достатньо інформативні, ґрунтуються на принципах наукової доказовості та достовірності. Розділ складається з двох підрозділів, викладений на 12 сторінках, містить дві таблиці, закінчується коротким резюме та посиланнями на висвітлення результатів розділу у публікаціях.

Результати власних досліджень викладені у третьому, четвертому та п'ятому розділах.

У розділі 3 **«Вміст IGF-1 в сироватці крові та стан системи H₂S/ЦГЛ в тканинах печінки й нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції»** представлено зміни сироваткового рівня IGF-1 у щурів за досліджуваних умов і на фоні метаболічної корекції. Автором встановлено, що інтрагастральне введення 40 % етанолу протягом 7 діб спричинює збільшення зростанням сироваткового вмісту сигнальної молекули інсуліноподібного фактора росту 1, зміни метаболізму гідроген сульфід у печінці та нирках щурів. Виявлено, що найбільшу корегуючу дію на системи інсуліноподібний фактор росту 1 та гідроген сульфід / цистатіон-γ-ліаза виявляла комбінація кверцетину та натрій гідрогенсульфіду. Розділ викладений на 14 сторінках, результати представлено в 6 таблицях та 4 рисунках, складається з двох підрозділів. Результати досліджень даного розділу опубліковано у двох наукових працях.

У розділі 4 **«Біохімічні та цитофлуориметричні параметри функціонування печінки й нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції»** здобувач наводить достовірні зміни біохімічних

маркерів ураження печінки (активності аланінамінотрансферази, гама-глутамілтранспептидази, вмісту загального білка в сироватці крові) та нирок (діурезу, кліренсу креатиніну, екскреції білка з сечею), маркерів запалення (вмісту фактора некрозу пухлин альфа у печінці та нирках), жирової інфільтрації (рівня тригліцеридів у печінці), оксидативного стресу (вмісту малонового діальдегіду, супероксиддисмутазної активності в печінці, нирках та сироватці крові), апоптозу та проліферації клітин печінки та нирок у щурів на моделі гострого алкогольного ураження. Здобувач підтверджує розвиток вагомих патохімічних змін у печінці та нирках (цитоліз гепатоцитів, холестаза, стеатогепатоз, пригнічення білоксинтезуючої функції печінки, формування тубулярної дисфункції в нирках, індукція запалення, розвиток оксидативного стресу, апоптозу, порушенням процесів проліферації в печінці та нирках). Патохімічні зміни в нирках та печінці корегувалися всіма препаратами, але найбільше – комбінованим уведенням кверцетину та натрій гідроген сульфід, а вираженість гепато- та нефропротекторної активності тісно корелювала з їх впливом на сигнальні системи IGF-1 та H₂S. Розділ викладений на 33 сторінках, результати представлено в 21 таблиці, включає чотири підрозділи. Результати досліджень даного розділу опубліковано у 5-ти наукових працях.

У розділі 5 **«Морфологічний стан печінки та нирок за гострого алкогольного ураження і на тлі метаболічної корекції»** здобувач переконливо доводить розвиток структурної перебудови печінки та нирок при гострому алкогольному ураженні. Особливості гістологічної будови досліджуваних органів дозволило автору підтвердити їх зміни. Застосована фармакотерапія підтвердили результати біохімічних показників – найбільше покращення гістологічної структури печінки та нирок за гострого алкогольного ураження відмічалось при використанні комбінації кверцетину та натрію гідрогенсульфіду: в печінці тварин спостерігалися ознаки відновлення радіального розміщення печінкових балок, зменшувалася виразність запалення, знижувалися прояви жирової інфільтрації, гепатоцити мали високий ядерно-цитоплазматичний індекс; у нирках щурів не спостерігалось руйнування

листків капсули Боумена, ознаки дистрофії епітелію звивистих каналців були мінімальними. Розділ викладений на 17 сторінках, ілюстрований 14 рисунками (мікрофотографіями) та включає два підрозділи. Результати досліджень даного розділу опубліковано у 5-ти наукових працях.

У розділі 6 «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» автором проведено узагальнення та обговорення отриманих результатів. Дисертант акцентує на унікальності окремих отриманих даних, решта із них значно доповнюють та поглиблюють відомі дані щодо позитивного впливу кверцетину та натрій гідрогенсульфіду на печінку та нирки тварин при гострому алкогольному ураженні. У даному розділі автор уміло інтерпретує отримані результати, порівнює їх із отриманими іншими науковцями та загальновідомими фактами. Завершує розділ висновок, у якому автор вказує на необхідність використання донорів H_2S для оптимізації фармакотерапії гострого алкогольного ураження печінки та нирок препаратом із групи біофлаваноїдів. Слід зазначити позитивний момент – автором, на основі отриманих даних і даних літератури, створено узагальнюючу схему молекулярних механізмів гепато- та нефропротекторної активностей комбінації кверцетину та $NaHS$ за гострого алкогольного ураження печінки та нирок. Розділ викладений на 14 сторінках.

Висновки логічно завершують наукову роботу. Вони повністю відповідають меті й завданням дослідження, є конкретними та вичерпними.

Дисертація містить додатки, у яких представлено список публікацій здобувача, відомості про апробацію результатів роботи, акти впровадження результатів досліджень.

8. Рекомендації щодо використання результатів дисертації в науковій та практичній діяльності. Результати дисертаційної роботи Романенко Ірини Володимирівни можуть бути використані у навчальній та науковій роботі студентів, лікарів-інтернів при вивченні патофізіології, патоморфології, внутрішньої медицини, нефрології, гастроентерології, на курсах підвищення

кваліфікації лікарів, а також при написанні посібників, методичних і практичних рекомендацій.

Отримані у результаті проведення експерименту дані можуть стати підґрунтям для подальших клінічних досліджень з метою покращення лікування хворих на гостре алкогольне ураження печінки та легень.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача:

У роботі зустрічаються окремі граматичні та стилістичні помилки. Проте, принципових зауважень щодо змісту та оформлення дисертаційної роботи немає.

У ході рецензування дисертаційної роботи виникли наступні запитання:

1. Ви відмітили зростання сироваткового рівня IGF-1 при гострому алкогольному ураженні і розцінюєте це як активацію компенсаторно-захисних реакцій організму у відповідь на гостре пошкодження тканин і органів етанолом. Прошу пояснити механізм розвитку компенсаторних реакцій, пов'язаних з інсуліноподібним фактором росту 1 у даному експерименті.

2. У своєму дослідженні Ви відмітили при корекції гострого алкогольного ураження натрієм гідрогенсульфідом та його комбінацією з кверцетином більшу активацію IGF-1-сигнальної системи і розцінили це як один із чинників їх органопротекторної дії. Прошу пояснити саногенез у даному випадку.

3. Прошу пояснити механізм стимулюючого впливу кверцетину на рівень гідроген сульфиду, який виявився у Ваших дослідженнях.

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації чи фальсифікації – текст є унікальним на 82,4 % (експертний висновок комісії з виявлення та запобігання академічного плагіату Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України).

11. Відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Романенко Ірини Володимирівни на тему «Механізми ушкодження тканин печінки й нирок за експериментального гострого алкогольного ураження та шляхи метаболічної корекції» на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина є завершеною, самостійною науковою працею, яка вносить вагомий внесок у розв'язання актуального наукового завдання, що стосується з'ясування ролі інсуліноподібного фактора росту та гідроген сульфїду у механізмах гострого алкогольного ураження тканин печінки й нирок та обґрунтування метаболічної гепато- та нефропротекції.

За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, рівнем проведених досліджень, обґрунтованістю наукових положень і обсягом роботи дисертація повністю відповідає вимогам, передбаченим пунктами 6-9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 року № 44, які висуваються до дисертаційних робіт на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор, Романенко Ірина Володимирівна, заслуговує на присвоєння ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» у галузі знань 22 «Охорона здоров'я».

Офіційний опонент:
завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор



Ольга ДЕНЕФІЛЬ



завіряю

ступня ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

