

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора САВЧУКА Олексія Миколайовича, завідувача кафедри біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка на дисертацію Блажченка Віталія Вікторовича на тему: «Участь системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння», представлену до захисту в спеціалізовану Вчену раду ДФ 05.600.059, що утворена згідно наказу ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України № 89 від 28 жовтня 2022 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М. І. Пирогова № 3 від 27 жовтня 2022 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

1. Ступінь актуальності обраної теми.

В сучасному світі проблема ожиріння посідає провідне місце поруч з іншими патологіями. Попри те, що патогенетичні аспекти ожиріння активно вивчаються у різних галузях біології та медицини, проблема профілактики та корекції досліджуваної патології залишається невирішеною. Провідними факторами ожиріння вважають гіподинамію та аліментарне перевантаження організму висококалорійною їжею. Проте відсутність надійного ефекту при корекції даних чинників є підтвердженням сучасної концепції про поліморфне походження ожиріння та каскадні метаболічні розлади у різних органах і системах. Нирки є одним із органів-мішеней, які уражуються при ожирінні внаслідок підвищеного вивільнення жирних кислот, гормонів і прозапальних молекул, розладів гемоциркуляції, порушення проліферації та диференціації клітин тощо. Як відомо, що в нирках активно проходить обмін сірковмісних

амінокислот, у процесі якого синтезується важливий біорегулятор – гідроген сульфід (H_2S), який залучений до регуляції судинного тонуусу, імунозапальних та фібротичних процесів. Відомо, що порушення продукції H_2S інтегровані у розвиток ниркової недостатності різного генезу, а донори H_2S демонструють нефропротекторний ефект. Між тим, значення системи H_2S в нирках при ожирінні остаточно не з'ясовано і доцільність корекції цієї метаболічної ланки за ожиріння не визначена.

Отже, тема та мета представленої дисертаційної роботи Блажченка Віталія Вікторовича, що полягають у з'ясуванні участі системи гідроген сульфиду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння та обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H_2S , беззаперечно є актуальними. Для реалізації обраної мети автором було сформульовано та вирішено 5 наукових завдань, які відповідають темі та меті дисертаційного дослідження.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Дисертаційне дослідження Блажченка Віталія Вікторовича виконано в рамках ініціативної наукової тематики кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфиду та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології» (№ держреєстрації 0113U006461, 2014-2018 рр.), «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (№ держреєстрації 0119U001142, 2019-2023 рр.).

Дисертація виконана на високому науково-методичному рівні. Дисертантом проведено ретельний аналіз сучасного наукового інформаційного контенту за напрямом дослідження, чітко визначені мета та завдання дослідження, вірно відображені об'єкт і предмет дослідження. Застосовані здобувачем біохімічні, імуноферментні, молекулярно-генетичні, морфологічні, соматометричні методи досліджень є сучасними, попередньо апробованими,

відповідають меті та поставленим завданням. Отримані результати пройшли валідну статистичну обробку в ліцензійному пакеті MS Excel, IBM Statistics SPSS 26 for Windows (із застосуванням належних методів параметричного та непараметричного варіаційного аналізу) і у повному обсязі відображені у трьох розділах дисертації. Здобувачем детально та аргументовано проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження із покликанням на сучасні наукові праці. Наукові положення і висновки дисертації базуються на достатньому експериментальному матеріалі, відповідають меті та завданням роботи, випливають з отриманих результатів досліджень.

Усі наукові публікації здобувача – статті в наукових журналах, патенти, публікації в матеріалах науково-практичних конференцій та конгресів, є оригінальними і повністю відповідають вимогам до наукових публікацій здобувача ступеня доктора філософії.

3. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

Отримані здобувачем наукові результати дослідження, основні положення та висновки дисертації відзначаються науковою новизною.

Автором уперше проведена комплексна оцінка впливу метаболічних коректорів (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот) на обмін H_2S у нирках щурів за експериментального дієт-індукованого ожиріння. Уперше показано, що за умов ожиріння метаболічні коректори - цинк сульфат та ліпоєва кислота найбільш ефективно коригують рівень H_2S в нирках, у той час як тіосульфат і таурин справляють помірний ефект.

Уперше встановлено, що асоційовані з ожирінням зміни обміну H_2S в нирках характеризуються зниженням H_2S -продукуючої активності ензимів транссульфування; пригніченням активності шляхів цистеїнамінотрансферази / 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази та тіосульфатзалежного обміну H_2S . Засвідчено, що цинк сульфат та ліпоєва кислота більш ефективно коригують

активність ензимів транссульфування та тіоредоксинредуктази, підвищують ниркову експресію генів *CSE*, *CBS*, натрій тіосульфат більш ефективно підвищує активність тіосульфат(тіол)сульфуртрансферази та сульфітоксидази, а таурин справляє помірний вплив на продукцію H_2S .

Уперше проведена порівняльна оцінка впливу модуляторів обміну H_2S на нирковий рівень медіаторів запалення, ліпогенезу та фіброгенезу – інсуліноподібного фактору росту 1 (*IGF-1*) та фактору некрозу пухлини альфа (*TNF α*) і засвідчено більш виразний коригуючий ефект у цинк сульфату та ліпоєвої кислоти і помірний ефект у тіосульфату та таурину.

Основний зміст, положення та висновки дисертаційного дослідження повністю висвітлені у 16-ти наукових публікаціях, з яких 3 статті – у наукових фахових виданнях України, 11 тез - у матеріалах наукових міжнародних і національних з'їздів, конгресів, конференцій, 2 патенти України на корисну модель (№143133; 143134).

4. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертантом детально проведено патентно-інформаційний пошук, зроблено глибокий аналіз сучасного стану проблеми, висвітлені невирішені питання і обґрунтована доцільність визначення ролі системи H_2S в механізмах ренальної дисфункції за експериментального ожиріння. Дослідження базувалось на вивченні комплексу біохімічних параметрів в нирках, плазмі крові та сечі, які характеризують різні шляхи обміну H_2S , продукцію профіброгенних та прозапальних медіаторів, функціональний стан нирок; визначенні експресії генів ензимів транссульфування (*CSE*, *CBS*); оцінці соматометричних маркерів ожиріння та дослідженні мікроскопічних змін у нирках у 156 щурів з дієт-індукованим ожирінням в умовах модуляції обміну H_2S . Кількість досліджень у серіях експериментів є достатньою для обґрунтування результатів і підтвердження їх статистичної значущості, що

дало автору можливість вирішити поставлені наукові задачі. Комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол №9 від 02.11.2017, протокол №5 від 01.09.2022) засвідчено, що проведені дослідження відповідають міжнародним морально-етичним та правовим нормам. Висновки дисертації сформульовані на основі отриманих результатів та їх аналітичної оцінки, чітко відповідають поставленим завданням дослідження. Результати дисертації та основні положення висвітлені та обговорені у наукових публікаціях та під час фахових наукових конгресів та конференцій (у т.ч. на XII Українському біохімічному конгресі, VIII Lviv-Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry та ін.). В цілому наукова обґрунтованість отриманих результатів, положень та висновків дисертації не викликає сумнівів.

5. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.

Упродовж виконання поставленого наукового завдання здобувач у повній мірі та на високому рівні оволодів методологією наукової діяльності. На етапі підготовки до планування дисертаційного дослідження здобувач виконав патентно-інформаційний пошук, розробив план дослідження, сформулював мету та завдання, визначив перелік необхідних методів дослідження та експериментальних моделей. У процесі виконання дослідження дисертант оволодів методами роботи з лабораторними тваринами, моделювання експериментального ожиріння, індукованого високожировою висококалорійною дієтою, широким спектром біохімічних методів дослідження, методами статистичної обробки результатів, їх інтерпретації та узагальнення, критичного обговорення із покликанням на сучасні наукові досягнення в галузі, навичками формулювання основних положень та висновків дисертації, підготовки та оформлення публікацій у фахових джерелах. Вищевказане дозволило здобувачу на належному науковому рівні вирішити поставлену мету та виконати усі завдання дисертаційного дослідження.

6. Теоретичне і практичне значення отриманих результатів дослідження.

Результати дисертаційного дослідження Блаженка Віталія Вікторовича мають вагомe теоретичне та практичне значення і безумовно будуть корисними для здобувачів вищої освіти за спеціальністю біологія, широкого кола науковців та фахівців-практиків, які працюють за напрямками біохімії, лабораторної діагностики, фармакології. Теоретичне значення роботи полягає у тому, що автором поглиблені уявлення про значення системи H_2S в механізмах розвитку ренальної дисфункції за умов аліментарного ожиріння, з'ясовані нові механізми нефропротекторної дії потенційних модуляторів обміну H_2S (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот).

Практичне значення дослідження полягає у тому, що отримані автором результати є експериментальним обґрунтуванням нових напрямків підвищення адаптаційного потенціалу нирок за умов ожиріння, що включають модуляцію транссульфуразних та тіосульфатсульфуртрансферазних шляхів обміну H_2S . Практичне значення результатів дисертаційного дослідження автора також підтверджують 2 патенти на корисні моделі.

Результати дослідження використовуються в науковій роботі та навчальному процесі кафедр біологічної та загальної хімії, медичної біології, фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри медичної біології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету, кафедри клінічної медицини навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому.

Дисертація викладена українською мовою на 182 сторінках друкованого тексту і має класичну структуру згідно існуючих вимог: анотація, зміст, перелік

умовних скорочень і термінів, вступ, огляд літератури, розділ, що характеризує матеріали та методи дослідження, 3-х розділів власних досліджень, розділ аналізу та узагальненню результатів, висновки, список цитованої літератури, що включає 325 найменувань (з яких 301 латиницею), додатків. Дисертація ілюстрована 16 таблицями та 36 рисунками. Робота написана у науковому стилі, грамотною літературною мовою, чітко структурована, ілюстративний матеріал є інформативним і відображає основні результати дослідження та їх статистичну значущість.

Анотація викладена українською та англійською мовами ідентично, за структурою та змістом відповідає існуючим вимогам. В анотації надані основні результати наукового дослідження, підсумована їх наукова новизна та практична цінність, наведені ключові слова. Анотація включає список наукових праць здобувача, які відображають основні результати дисертації, додатково відображають наукові результати, засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

У вступі відображено сучасний стан наукової проблеми з акцентом на невирішені питання; наведено зв'язок з науковими програмами, планами, темами; обґрунтовано мету та завдання дослідження; описано індивідуальний внесок автора, наукову новизну та практичне значення роботи; наведено інформацію щодо апробації результатів дисертації, публікацій, структури та обсягу дисертації..

В розділі 1 «Сучасні погляди на обмін та біологічну роль гідроген сульфід у нирках у фізіологічних умовах та при ожирінні (огляд літератури)» наведений детальний аналіз сучасної наукової літератури з проблеми, описані біохімічні механізми ушкодження нирок за ожиріння, особливості обміну та фізіологічна роль H_2S , роль системи H_2S в патогенезі ожиріння, фізіологічна роль можливих модуляторів обміну H_2S , сучасний погляд на роль цинку, ліпоевої кислоти, таурину та тіосульфату в регуляції метаболічних процесів та нефропротекції.

Автором висвітлені невирішені та дискутабельні аспекти проблеми, що обґрунтовують вибір дисертантом напрямку досліджень, його конкретної мети та завдань. Розділ викладено на 25 сторінках, ілюстровано 5 рисунками та 2 таблицями, що покращує сприйняття інформації.

У розділі 2 «**Матеріали та методи дослідження**» детально описані матеріали, моделі та методи дослідження, засвідчена відповідність дослідження біоетичним та морально-правовим нормам, представлено загальний дизайн дослідження. Наведено детальний опис моделі експериментального ожиріння у щурів, представлений склад використаних в роботі дієт (стандартної та високожирової висококалорійної дієти), обґрунтовані дози та терміни введення метаболічних коректорів, описані методи оцінки соматометричних параметрів; методика отримання біологічного матеріалу; біохімічні методи дослідження показників обміну H_2S в нирках щурів, методи лабораторної оцінки функціонального стану нирок, методика дослідження експресії генів ензимів транссульфування, методи морфологічних досліджень, статистичної обробки цифрового матеріалу. Застосовані автором методичні підходи дозволяють об'єктивно та комплексно вирішити завдання роботи та досягти визначеної мети. Розділ викладено на 15 сторінках, ілюстровано 1 рисунком та 2 таблицями.

Розділи 3, 4, 5 присвячені аналізу результатів власних досліджень, ілюстровані таблицями, рисунками, графіками, які відображають експериментальні дані та їх статистичну значущість. Розділи завершуються лаконічними інформативними резюме щодо отриманих результатів із акцентом на наукову новизну та покликанням на публікації автора, у яких відображені результати розділу.

Розділ 3 «Зміни соматометричних параметрів та ниркового рівня гідроген сульфід у щурів за дії висококалорійної дієти та метаболічних коректорів» включає результати дослідження розвитку експериментального ожиріння у щурів під впливом модифікованого варіанту висококалорійної високожирової дієти; висвітлює вплив метаболічних коректорів (цинк

сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти) на соматометричні параметри щурів з ожирінням; доводить зв'язок між розвитком ожиріння та формуванням дефіциту H_2S у нирках; вперше засвідчує здатність метаболічних коректорів коригувати рівень H_2S в нирках щурів за умов ожиріння. Розділ викладено на 15 сторінках, містить 3 підрозділи, ілюстрований 11 рисунками та 2 таблицями.

Розділ 4 «Вплив метаболічних коректорів на показники обміну гідроген сульфід, рівні медіаторів запалення і фіброгенезу в нирках щурів за експериментального ожиріння» містить уперше отримані фактичні результати порівняльного дослідження впливу цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину, α -ліпоєвої кислоти на різні ланки обміну H_2S , а саме на активність ензимів транссульфування та рівень експресії їх генів (*CSE*, *CBS*), активність мітохондріальних етапів обміну H_2S та його похідних (тіосульфаттіолсульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітооксидази). Показаний зв'язок між показниками обміну H_2S та рівнем прозапальних, профіброгенних та ліпогенних медіаторів ($TNF\alpha$, IGF-1) в нирках щурів за умов ожиріння, а також вплив метаболічних коректорів (модуляторів обміну H_2S) на їх продукцію у нирках. Автором уперше показано, що усі включені у дослідження засоби виявили здатність коригувати обмін H_2S в нирках, однак найбільш виразний ефект справляли цинк сульфат та ліпоєва кислота. Розділ викладено на 14 сторінках, містить 2 підрозділи, ілюстрований 4 рисунками та 8 таблицями.

У розділі 5 «Вплив модуляторів обміну гідроген сульфід на морфофункціональний стан нирок щурів за експериментального ожиріння» здобувачем встановлено, що формування дієт-індукованого ожиріння супроводжується розвитком ренальної дисфункції, про що переконливо свідчить значне зростання сироваткового рівня цистатину С, підвищення рівня ензимурії гама-глутамілтрансферази, зниження кліренсу креатиніну, а застосування модуляторів обміну H_2S зменшує біохімічні ознаки нефропатії ожиріння. Порушення клубочкового та каналцевого апарату

корелює зі зниженням рівня H_2S , пригніченням експресії H_2S -продукуючих ензимів, підвищенням продукції прозапальних та профіброгенних медіаторів ($TNF\alpha$, $IGF-1$) у нирках. Морфологічно підтверджено, що за експериментального ожиріння найкращий нефропротекторний ефект виявили цинк сульфат та ліпоєва кислота, тоді як натрій тіосульфат та таурин забезпечили стійку тенденцію до зменшення мікроскопічних ознак нефропатії ожиріння. Розділ викладено на 15 сторінках, містить 2 підрозділи, ілюстрований 14 рисунками та 2 таблицями.

У розділі 6 «Аналіз і узагальнення результатів дослідження» здобувачем проведено ґрунтовний аналіз одержаних результатів дослідження, проведено їх обговорення з покликанням на відповідні фахові публікації вітчизняних та закордонних науковців, детально проаналізовані виявлені закономірності, висвітлені питання для дискусії та перспективи подальших досліджень. Розділ завершується розробленою автором, інформативною схемою, яка ілюструє участь системи H_2S у механізмах розвитку нефропатії ожиріння та напрямки впливу метаболічних коректорів на обмін H_2S , логічно підводить до висновків дисертації.

Висновки до дисертації починаються з узагальнюючої тези, яка розкриває вирішену дисертантом наукову-практичну задачу, присвячену встановленні участі системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння і обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну H_2S . У **п'яти окремих висновках**, що зроблені на основі фактичного матеріалу з урахуванням значимості отриманих результатів, підтверджено досягнення поставленої мети та вирішення відповідних завдань дисертаційного дослідження.

Список використаних джерел наукової літератури складається з 325 найменувань (з них 301 латиницею), до яких згідно діючих вимог включені публікації автора дисертації.

У Додатках до дисертації представлений список наукових праць здобувача, в яких опубліковані основні результати дисертації, наукових праць, які додатково відображають результати дисертації та засвідчують їх апробацію, список наукових форумів та конгресів, на яких була проведена апробація матеріалів дисертації. У додатках представлено 6 актів впровадження результатів дисертації в навчальний процес та наукову діяльність профільних кафедр.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Отримані результати дисертаційного дослідження рекомендуються до використання у лекційному матеріалі та під час проведення практичних занять при підготовці здобувачів на кафедрах біохімії, біології, медичної біології, фармакології у закладах вищої освіти, в роботі навчальних та науково-дослідних лабораторій при вивченні механізмів нефропротекторної дії лікарських засобів, які реалізуються через систему H_2S .

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

У процесі розгляду оформлення та змісту дисертації виникло декілька зауважень, які не є принциповими і не впливають на загальну високу оцінку методичного рівня виконання, теоретичного та практичного значення, наукової новизни роботи автора.

1. Перелік умовних позначень, скорочень і термінів можна було представити більш стисло, оскільки окремі скорочення зустрічаються лише в огляді літератури і далі не дублюються (наприклад, SAM, MMP, RNS та ін.).

2. У розділі 1 доцільно було привести класифікацію засобів, що застосовуються для лікування ожиріння та їх вплив на функцію нирок.

3. Використані у дослідженні такі соматометричні параметри як індекс маси тіла та індекс Лі є однотипними і можна було б обрати один із них.

В якості дискусії хотілося б почути відповідь дисертанта на **наступні питання:**

1. Через які молекулярні механізми реалізуються біологічні ефекти гідроген сульфід у при ожирінні?
2. Порушення якої ланки обміну гідроген сульфід у нирках має найбільш несприятливі наслідки за ожиріння на Вашу думку?
3. Які із відомих нефропротекторів здатні коригувати ендогенну продукцію гідроген сульфід?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації. При комп'ютерній експертизі програмним засобом «Антиплагіатна інтернет-система StrikePlagiarism» електронного примірника дисертації Блажценка Віталія Вікторовича та наявних за її темою публікацій академічного плагіату не виявлено. Текст дисертації є оригінальним (середня частка авторського тексту 90,3%), наявні окремі співпадиння з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на наукову літературу та загальноновживаними фразами. Робота визнається самостійною і може бути допущена до захисту.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертація Блажценка Віталія Вікторовича на тему: **«Участь системи гідроген сульфід у механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння»**, представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія», є завершеною, самостійно виконаною кваліфікаційною науковою працею, в якій викладені нові науково-обґрунтовані результати, положення та висновки, що в сукупності вирішують актуальну науково-практичну задачу - встановлення участі системи гідроген сульфід (H_2S) в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння і обґрунтуванні шляхів корекції

виявлених порушень кофакторами та активаторами обміну H_2S . Результати дисертації, основні положення та висновки мають важливе теоретичне та практичне значення для сучасної біології, насамперед для фахівців з біохімії.

За актуальністю теми, мети та завдань, науковим рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, науковою новизною та обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій, теоретичним та практичним значенням, дисертація повною мірою відповідає вимогам «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 січня 2022 р. №44 та вимогам щодо оформлення дисертації відповідно до наказу МОН України №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Автор дисертації **Блажченко Віталій Вікторович** заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри біохімії

Навчально-наукового центру

«Інститут біології та медицини»

Київського національного університету

імені Тараса Шевченка,

доктор біологічних наук, професор

Олексій САВЧУК