

## **ВІДГУК**

**офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора  
ФОМЕНКО Ірини Степанівни,  
професора ЗВО кафедри біологічної хімії Львівського національного  
медичного університету імені Данила Галицького  
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».**

### **Ступінь актуальності обраної теми.**

Ожиріння – одна з найважливіших медико-соціальних проблем, яку виявляють серед різних вікових категорій та соціальних груп населення. За статистичними даними ВООЗ в економічно розвинених країнах майже 50% населення мають надлишкову вагу, з них 30% страждають ожирінням. Незважаючи на те, що статистика в Україні менш драматична (в середньому 20% осіб працездатного віку мають ожиріння), слід відмітити неухильне зростання кількості людей з надлишковою вагою. Особливу небезпеку представляє не тільки ожиріння, але й коморбідні захворювання, що його супроводжують. Добре досліджені метаболічні зв'язки між ожирінням і цукровим діабетом 2-го типу, артеріальною гіпертензією, атеросклерозом, деякими видами злоякісних пухлин, порушеннями репродуктивної функції та захворюваннями опорно-рухового апарату. Водночас, біохімічні механізми розвитку патологічного процесу

в нирках, зумовлені порушенням обміну речовин при ожирінні досі потребують подальшого вивчення, а, отже, актуальність їх дослідження не викликає жодних сумнівів.

Беззаперечним фактом на сьогодні є те, що гідроген сульфід відіграє важливу роль в регуляції функціонального стану нирок, що пов'язана з його протизапальними, антиоксидантними, протифібротичними та протиапоптичними властивостями. Проте, зміни синтезу ренального гідроген сульфиду за умов ожиріння залишаються недостатньо вивченими, а корекція продукування вказаного газового медіатора модуляторами різної природи та механізмів впливу може бути важливою для нормалізації метаболічних процесів в нирках.

Враховуючи наведене вище тема дисертаційної роботи Блажченка Віталія Вікторовича, яка присвячена з'ясуванню участі системи гідроген сульфиду в механізмах розвитку ренальної дисфункції за експериментального ожиріння та обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень модуляторами обміну гідроген сульфиду, є вкрай актуальною для біології та біохімії, як в теоретичному, так і в практичному плані.

### **Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.**

Дисертація виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова на кафедрі біологічної та загальної хімії та є фрагментом планових науково-дослідних робіт «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.) та «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (№ держреєстрації 0119U001142, 2019-2023 рр.).

Як тема виконаної дисертаційної роботи, так і окремі завдання, виконані для досягнення поставленої мети, є актуальними для біології та медицини, важливими у теоретичному та практичному аспектах.

Під час виконання роботи дисертантом були застосовані науково та практично апробовані методи експериментальних досліджень, сучасні та інформативні біохімічні, імуноферментні, молекулярно-генетичні та морфологічні методи, результати дослідження ґрунтовно опрацьовані методами математичної статистики у ліцензійному програмному забезпеченні. На високому науковому рівні проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження із використанням сучасних наукових джерел інформації у галузі біології та медицини. Висновки дисертації відповідають завданням дослідження і є логічним стислим підсумком самостійно виконаної роботи здобувача.

Дисертація в цілому виконана на високому науковому та методичному рівні згідно вимог до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Наукові праці дисертанта, що видані у фахових журналах України та матеріалах міжнародних фахових конгресах та конференціях публікації пройшли усі етапи експертних оцінок і є оригінальними. Додаткові результати дисертації відображені автором у 2-х патентах на корисні моделі.

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

Отримані автором результати дослідження, основні положення та висновки характеризуються науковою новизною. Автором уперше було проведено комплексне дослідження особливостей обміну  $H_2S$  в нирках щурів за умов експериментального ожиріння та за метаболічної корекції потенційними модуляторами обміну  $H_2S$ . Істотно поглиблені наукові уявлення про участь системи  $H_2S$  в механізмах ренальної дисфункції за аліментарного ожиріння, встановлені особливості впливу метаболічних коректорів (кофакторів та метаболітів сірковмісних амінокислот) на обмін  $H_2S$  в нирках та асоційовані з ним процеси, засвідчено більш ефективне підвищення адаптивного потенціалу нирок в умовах ожиріння за дії цинк сульфату та ліпоєвої кислоти, що пов'язано

з їх здатністю коригувати активність процесів транссульфування та депонування  $H_2S$ , пригнічувати продукцію профіброгенних та прозапальних медіаторів (інсуліноподібного фактору росту 1, та фактору некрозу пухлини альфа).

Отримані результати дисертації повністю відображені в опублікованих наукових працях: загалом 16 публікацій, у тому числі 3 статті у наукових фахових виданнях МОН України (категорія Б), 11 тез – в матеріалах конгресів та конференцій, 2 патенти України на корисні моделі.

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

Дисертаційна робота Блажценка В.В. є самостійним завершеним науковим дослідженням, що виконано на високому науковому та методичному рівні. Сформульовані автором основні наукові положення та висновки обґрунтовані достатньою кількістю експериментальних досліджень, проведених на 156 білих нелінійних щурах-самцях із дотриманням біоетичних норм та правил (комітет з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова протокол №9 від 02.11.2017, №5 від 01.09.2022).

В роботі застосована відома експериментальна модель ожиріння та використаний широкий спектр апробованих сучасних лабораторних методів: біохімічних (визначення рівня ендogenous гідроген сульфід, активності  $H_2S$ -синтезуючих ензимів, ензимів депонування та утилізації  $H_2S$  у нирках); методів імуноферментного аналізу (медіатори запалення та фіброгенезу); молекулярно-генетичних методів (дослідження експресії генів ензимів транссульфування); методи гістологічних досліджень, соматометричні методи. Отримані результати математично опрацьовані належними методами варіаційної статистики за допомогою ліцензійного програмного забезпечення і їх статистична значущість не викликає сумнівів.

Здобувачем проаналізовано великий обсяг інформації з проблем біології ожиріння та обміну гідроген сульфід, результати власних досліджень ретельно

обговорені та співставлені з даними вітчизняних та закордонних фахових публікацій.

Висновки дисертації сформульовані на основі отриманих результатів та їх аналітичної оцінки, чітко відповідають поставленим завданням дослідження і є аргументованими. Результати дисертації та основні положення у повній мірі висвітлені та обговорені у наукових публікаціях та під час фахових наукових конгресів та конференцій.

Перераховане вище дозволяє оцінити одержані результати наукового дослідження, основні наукові положення, висновки як обґрунтовані та достовірні.

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

Аналіз результатів дисертаційного дослідження, основних положень та висновків, наукової новизни та практичного значення роботи показав, що здобувач у повній мірі оволодів методологією наукової діяльності та на високому науковому рівні виконав поставлене наукове завдання. Здобувач ретельно та глибоко провів патентно-науковий пошук, опрацював і узагальнив 325 наукових фахових публікацій за темою дослідження, серед яких 301 англomовних джерел. На етапі планування дослідження автором були виявлені не вирішені та дискусійні питання з патогенетичних аспектів ожиріння та асоційованих з ним ускладнень, що дозволило здобувачу розробити план дослідження, чітко окреслити мету та завдання, обрати валідні експериментальні моделі та методи дослідження. У процесі виконання роботи дисертант набув навичок моделювання ожиріння у лабораторних тварин, планування та проведення біохімічних, морфологічних та молекулярно-генетичних досліджень, оволодів методологією статистичного аналізу результатів, їх узагальнення та обговорення з урахуванням існуючої наукової інформації з проблеми. Автор здобув навички та вміння щодо написання та оформлення

наукових праць для публікації у фахових журналах та матеріалах конгресів та конференцій, навички оформлення та подання патентів. Вищезазначене дозволяє засвідчити, що дисертаційне дослідження виконано на належному науковому рівні, а дисертант у повній мірі оволодів методологією наукової діяльності.

### **Теоретичне і практичне значення отриманих результатів дослідження.**

Отримані здобувачем результати дослідження вирішують актуальне завдання біології щодо розкриття нових механізмів підвищення адаптаційних резервів нирок за умов ожиріння, на основі яких експериментально обґрунтовані нові нефропротекторні властивості таких метаболічних коректорів як цинку сульфат, ліпоєва кислота, тіосульфат натрію та таурин. Виконане дослідження має вагомe теоретичне і практичне значення для широкого кола здобувачів вищої освіти, науковців та фахівців, котрі працюють у галузях біології, біохімії, фармакології та медицини. Отримані автором патенти також засвідчують практичне значення даної дисертаційної роботи.

Матеріали дослідження впроваджені в навчальну та наукову роботу 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.

### **Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому.**

Дисертація викладена українською мовою, науковий стиль описання результатів досліджень, наукових положень та висновків забезпечує легкість і

доступність їх сприйняття. Структура та обсяг дисертації Блажченка В.В. відповідають чинним вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії, технічне оформлення рукопису якісне, рисунки та таблиці змістовні і не дублюють інформацію. Дисертація містить усі необхідні розділи – анотацію, зміст, список умовних позначень, скорочень та термінів, вступ, огляд літератури, матеріали та методи дослідження, 3 розділи власних досліджень, аналіз й узагальнення результатів дослідження, висновки, список літературних джерел, додатки. Загальний обсяг дисертації – 182 сторінки друкованого тексту; робота ілюстрована 16 таблицями та 36 рисунками, включає 325 джерел літератури (24 - кирилицею, 301 – латиницею).

В анотації відображено найбільш вагомі результати дисертаційного дослідження, зроблені акценти на наукову новизну та практичну цінність, наведено список публікацій здобувача за темою дисертації, які відображають основні наукові результати, їх апробацію у матеріалах конгресів та конференцій, праці, які додатково відображають результати дисертаційного дослідження. Анотація подана українською та англійською мовами, містить ключові слова дисертації, за структурою та обсягом відповідає діючим вимогам.

У вступі висвітлені сучасний стан проблеми, показний зв'язок з науковими програмами, планами, темами, обґрунтовані мета та завдання дослідження, лаконічно окреслені предмет та об'єкт дослідження, чітко сформульовані положення наукової новизни та практичного значення дослідження, зазначено особистий внесок здобувача, форми оприлюднення результатів дослідження, кількість публікацій та структура дисертації.

В огляді літератури (Розділ 1 «Сучасні погляди на обмін та біологічну роль гідроген сульфід у нирках у фізіологічних умовах та при ожирінні») наведений глибокий аналіз сучасної наукової літератури з питань біологічних властивостей, особливостей метаболізму та реалізації сигнальних функцій малої сигнальної молекули - гідроген сульфід, висвітлена роль ключових та альтернативних шляхів обміну  $H_2S$ , описані біологічні та медичні аспекти проблеми ожиріння, патобіохімічні механізми розвитку ренальної дисфункції та гломерулопатії

ожиріння, охарактеризовані потенційні модулятори обміну  $H_2S$  в умовах ожиріння, висвітлені невирішені питання та обґрунтована доцільність дисертаційного дослідження автора. Особливо слід відмітити інформативні таблиці (2) та ілюстрації (5), які є аналітичним доробком автора на підставі опрацювання наукової літератури.

В другому розділі засвідчена відповідність дослідження біоетичним та морально-правовим нормам згідно чинних нормативних документів та законів України, детально описаний дизайн дослідження та серії експериментів, наведена характеристика експериментальних моделей, дієт та лабораторних тварин, методів отримання біологічного матеріалу, біохімічних, імуноферментних, морфологічних методів, описана методика кількісного дослідження експресії генів ензимів транссульфування, методика оцінки соматометричних показників (індексу маси тіла, індексу Лі) та індексу ожиріння, методи статистичної обробки результатів. Методи дослідження дозволяють об'єктивно та комплексно вирішити завдання роботи та досягти окресленої мети.

Третій розділ присвячений дослідженню змін соматометричних параметрів та ниркового рівня гідроген сульфід у щурів за дії висококалорійної дієти та метаболічних коректорів. У цьому розділі детально описані особливості динаміки розвитку експериментального ожиріння на тлі висококалорійної високожирової дієти; встановлений зв'язок між збільшенням маркерів ожиріння та формуванням дефіциту  $H_2S$  у нирках; уперше встановлено вплив потенційних коректорів - цинк сульфату, натрій тіосульфату, таурину,  $\alpha$ -ліпоевої кислоти на рівень  $H_2S$  у нирках на тлі ожиріння і засвідчена їх здатність коригувати виявлений дефіцит  $H_2S$ ; засвідчено відсутність ліпогенної дії у вказаних модуляторів обміну  $H_2S$  за даних експериментальних умов. Розділ складається з трьох підрозділів, результати узагальнені у 11 рисунках та 2 таблицями із зазначенням статистичної значущості.

Четвертий розділ висвітлює вплив метаболічних коректорів на показники обміну гідроген сульфід, рівні медіаторів запалення і фіброгенезу в нирках щурів за експериментального ожиріння. Саме цей розділ привертає найбільшу



увагу, оскільки містить основне фактологічне обґрунтування наукової новизни дисертаційного дослідження. Зокрема, результати даного розділу переконливо свідчать, що у формування дефіциту  $\text{H}_2\text{S}$  у нирках за ожиріння залучені різні біохімічні шляхи – пригнічення активності та експресії ензимів транссульфування, зниження активності шляху цистеїнамінотрансфераза/ 3-меркаптопірувасульфуртрансфераза, інгібування шляхів обміну  $\text{H}_2\text{S}$ , залежних від тіосульфатсульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфідоксидази.

Доведено, що за умов ожиріння зниження активності та експресії ензимів синтезу  $\text{H}_2\text{S}$  в нирках асоціюється з активацією запальних та фібротичних процесів. Цинк сульфат, ліпоева кислота, тіосульфат, таурин зменшують біохімічні зміни у нирках, але виявляють різну активність щодо впливу на систему  $\text{H}_2\text{S}$ . Автором вперше показано, що цинк сульфат і ліпоева кислота більш ефективно коригують активність ензимів транссульфування та тіоредоксинредуктази, у той час як тіосульфат підвищує активність тіосульфатсульфуртрансферази та сульфідоксидази, а таурин виявляє помірний протекторний вплив на різні шляхи обміну  $\text{H}_2\text{S}$ . Показано, що пригнічення ендогенної продукції  $\text{H}_2\text{S}$  у нирках за ожиріння асоціюється зі збільшенням експресії прозапальних та профіброгенних медіаторів (фактору некрозу пухлини-альфа та інсуліноподібного фактору росту 1), а модулятори обміну  $\text{H}_2\text{S}$  коригують цей ефект. Розділ складається з двох підрозділів, результати узагальнені у 4 рисунках та 8 таблицях із зазначенням статистичної значущості.

Розділ 5 присвячений встановленню впливу модуляторів обміну гідроген сульфідіду на морфофункціональний стан нирок щурів за експериментального ожиріння. У цьому розділі автором доведено, що висококалорійна вискожирова дієта викликає у щурів розвиток ренальної дисфункції, яка характеризується зростанням в крові цистатину С - раннього маркера ураження клубочкового апарату нирок, підвищення рівня ензимурії гама-глутамілтрансферази – раннього маркера ушкодження тубулярного апарату, зниження кліренсу креатиніну та характерними морфологічними змінами нефрону. Порушення функціонального стану нирок корелюють змінами в системі  $\text{H}_2\text{S}$  та підвищенням

продукції фактору некрозу пухлини-альфа та інсуліноподібного фактору росту 1 в нирках за ожиріння. Доведено, що за умов висококалорійної дієти найкращий ефект у відношенні збереження та відновлення структурних елементів паренхіми нирок щурів справляли цинк сульфат і ліпоєва кислота, у той час як натрій тіосульфат та таурин викликали стійку тенденцію до зменшення морфологічних ознак нефропатії. За результатами мікроскопічної та біохімічної оцінки стану нирок автор засвідчує, що за нефропротекторним ефектом метаболічні коректори можна розташувати наступним чином: цинк сульфат  $\geq$  ліпоєва кислота  $>$  тіосульфат натрію  $\geq$  таурин. Розділ складається з двох підрозділів, результати узагальнені у 14 рисунках та 2 таблицях.

У шостому розділі наведено підсумок результатів дослідження, які автор зіставляє з сучасною науковою інформацією з проблеми, детально обговорює виявлені закономірності, акцентує увагу на дискусійних питаннях і логічно підводить до висновків. Наприкінці розділу автор наводить графічне узагальнення участі системи  $H_2S$  у механізмах розвитку нефропатії ожиріння та напрямки впливу застосованих метаболічних коректорів на обмін  $H_2S$ , що є авторським доробком дисертанта та вдало підсумовує отримані ним результати.

Узагальнюючий та 5 окремих висновків дисертації повністю відповідають завданням дослідження, зроблені на основі фактичного матеріалу з урахуванням значимості отриманих результатів і підтверджують досягнення поставленої мети дисертаційного дослідження.

Список використаних джерел наукової літератури оформлений відповідно до існуючих вимог і складається з 325 джерел наукової літератури (24 викладені кирилицею, 301 - латиницею). У списку літератури наведені публікації здобувача, на які є покликання у відповідних розділах роботи.

Дисертацію в цілому слід вважати повністю завершеною науковою працею.

Додатки до дисертації оформлені згідно вимог. Додаток А містить список наукових праць дисертанта, 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. Додаток Б містить 6 актів впровадження результатів дисертації в навчальну та наукову діяльність вищих навчальних закладів України за біологічним та медичним спрямуванням.

### **Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.**

Результати дисертації доцільно використовувати в освітньому процесі та науковій діяльності при підготовці фахівців біологічного та медичного профілю на кафедрах біології та медичної біології, біологічної хімії, фармакології, лабораторної діагностики вищих навчальних закладів та науково-дослідних установ, що засвідчують відповідні акти впровадження дисертації в навчальний процес, про що свідчать відповідні додатки дисертації.

### **Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.**

Оцінюючи дисертаційну роботу Блажченка Віталія Вікторовича в цілому позитивно, необхідно відзначити деякі запитання та зауваження, які виникли в процесі рецензування роботи:

1. В другому розділі дисертаційної роботи доцільно було більш детально обґрунтувати обрані дози та спосіб введення коректорів обміну  $H_2S$ . Внаслідок цього виникло запитання чи не буде при пероральному введенні таурину відбуватися його депонування в печінці? Чи може метаболізм таурину в гепатоцитах пояснювати більш помірний його вплив (порівняно з іншими коректорами) на показники синтезу гідроген сульфату?
2. В дисертаційній роботі показано, що дієт-індуковане ожиріння зумовлює зниження рівня експресії генів та, як наслідок, активності ензимів транссульфування – цистатіонін- $\gamma$ -ліази, цистатіонін- $\beta$ -синтази. Який

молекулярний механізм впливу ожиріння на рівень експресії генів цих ензимів?

3. Відомо, що тіосульфат-аніон слугує здебільшого субстратом для мітохондріального синтезу  $\text{H}_2\text{S}$ . Оскільки в роботі доведено статистично достовірний вплив введення  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  на активність цитоплазматичних ензимів – цистатіонін- $\gamma$ -ліази, цистатіонін- $\beta$ -синтази, то за яким механізмом реалізується такий вплив?
4. Оскільки дисертантом було використано різні модулятори синтезу гідроген сульфату, що включали як кофактори так і метаболіти обміну сірковмісних амінокислот, які по-різному здійснюють вплив на обмін, аналіз їх впливу також доцільно було розмежовувати.

#### **Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.**

За результатами проведеного аналізу тексту дисертації та наукових публікацій ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації або фальсифікації результатів дисертаційного дослідження Блажченка Віталія Вікторовича не виявлено. Текст дисертації є оригінальним (90,3% авторського тексту за системою StrikePlagiarism), отримані результати є власним доробком здобувача.

#### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертація Блажченка 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, виконаною самостійно науковою працею, що містить новітні наукові результати, положення та висновки, які вирішують актуальну для біології науково-практичну задачу встановлення участі системи гідроген сульфід ( $\text{H}_2\text{S}$ ) в механізмах розвитку ренальної дисфункції за

експериментального ожиріння і обґрунтуванні шляхів корекції виявлених порушень можливими модуляторами обміну  $H_2S$ .

За актуальністю теми, мети та завдань, науковим рівнем виконання, обсягом проведених досліджень та рівнем їх аналізу, науковою новизною отриманих результатів, їх 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:**

професор ЗВО кафедри біологічної хімії

Львівського національного

медичного університету

імені Данила Галицького,

доктор біологічних наук, професор

Ірина ФОМЕНКО