

## ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора ЗВО, завідувача кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету **ЗАМОРСЬКОГО Ігоря Івановича** на дисертаційну роботу **Струтинської Олени Борисівни** на тему: **«Роль гідроген сульфїду в механізмах нефропротекторної дії метформїну за експериментального цукрового діабету»**, представлену до захисту у разову раду ДФ 05.600.076, що утворена згідно наказу в.о. ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова № 108 від 30 червня 2023 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 9 від 29 червня 2023 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.*

Цукровий діабет (ЦД) за останні роки набуває масштабів «глобальної епідемії» та є однією з найскладніших медико-соціальних проблем. За останніми даними ВООЗ (квітень 2023 р.) ЦД є основною причиною ниркової недостатності, а також сліпоти, інфарктів, інсульту та ампутації нижніх кінцівок. ЦД посідає шосте місце серед 10-ти провідних причин смертності у світі. За прогнозами фахівців в усіх країнах, особливо розвинених, кількість хворих на цю недугу в ХХІ столітті буде подвоюватись, а за деякими даними – зростати в чотири рази кожних десять років. У період з 2000 по 2019 рік на 3% зросла смертність від ЦД, досягнувши в означений 2019 рік близько 2 мільйонів смертей від ЦД та діабетичної нефропатії. На даний час в Україні кількість лише офіційно зареєстрованих осіб із цією патологією наближається до півтора мільйона. ЦД 1-го типу, який розвинувся в дитинстві, скорочує середню тривалість життя на 10-20 років. Статистика свідчить, що кожної хвилини у світі шість людей гине від ЦД. При цьому проблема ЦД визначається не кількістю хворих, яка продовжує невпинно зростати, а, головним чином, ускладненнями, які з часом

виникають у переважної більшості хворих на ЦД і призводять до втрати працездатності та передчасної смерті. Основною причиною ускладнень є різноманітні макро- та мікроангіопатії, однією із найзагрозливіших серед яких є діабетична нефропатія (ДН).

ДН виникає через 10-15 років після початку хвороби і займає перше місце серед причин смертності хворих діабетом 1-го типу, у пацієнтів з ЦД 2-го типу смерть від хронічної хвороби нирок (або хронічної ниркової недостатності) внаслідок ДН настає у кожного п'ятого. ДН має прогресуючий перебіг: від мікроальбумінурії до нефротичного синдрому, від нормальної функції нирок до термінальної хронічної ниркової недостатності. Зазвичай, з моменту появи постійної протеїнурії, що дозволяє діагностувати клінічну стадію ДН, до моменту підвищення концентрації креатиніну та сечовини в крові, що характеризує початок хронічної хвороби нирок, минає 5-7 років. ДН є найчастішою причиною нефротичного синдрому у дорослих та найпоширенішою причиною (у 80% випадків) термінальних стадій захворювань нирок (Merck et al., 2023). Поширеність ниркової недостатності становить близько 40% серед пацієнтів з ЦД 1-го типу. Поширеність ниркової недостатності серед пацієнтів з ЦД 2-го типу зазвичай становить 20-30%, хоча, як зазначають деякі джерела (Merck et al., 2023), ці показники ймовірно є недооціненими. Розуміння причин, що прискорюють чи сповільнюють розвиток ниркової недостатності та хронічної хвороби нирок у пацієнтів з ДН, дозволяє більш ефективно вплинути на швидкість прогресування ниркової патології та подовжити додіалізний активний період їхнього життя.

На сьогодні основним індукуючим чинником у розвитку судинної патології у хворих на ЦД вважають гіперглікемічний стан, який є пусковим у розвитку ендотеліальної дисфункції і призводить до дисбалансу вазодилатуючих та вазоконстрикторних речовин. Це пов'язано з тим, що нирки більше від інших органів залежать від функціонального стану ендотелію у зв'язку з наявністю великого пулу ендотеліальних клітин, які є інсулінонезалежними, тому за умов

гіперглікемії глюкоза без перешкод потрапляє в них, викликаючи порушення їхньої функції внаслідок патологічних метаболічних змін.

Пусковий механізм ДН – гіперглікемія, яка впливає на ендотелій капілярів клубочків безпосередньо та опосередковано (поліоловий шлях метаболізму глюкози, неферментативне глікозилювання білків ниркової тканини). При цьому, патогенетично найважливішим є ушкодження судин. Щодо органів-мішеней при ЦД, то тут на перші місця потрапляють серцево-судинна система, головний мозок і нирки. Разом з тим, формування вказаних порушень, їхня залежність від тих змін, які відбуваються в початковому періоді виникнення інсулінової недостатності та ЦД залишаються недостатньо описаними в літературі. Здебільшого джерела літератури описують вже розвинуту клінічну картину сформованого періоду захворювання, коли з'являються вторинні ускладнення, у тому числі і виражені прояви ДН, які прогресують і з часом носять незворотний характер.

Виходячи з вказаного вище, тема дисертаційного дослідження Струтинської Олени Борисівни є актуальною і беззаперечно має наукову та практичну значущість, адже спрямована на оптимізацію лікування ДН на основі уточнення окремих ланок патогенезу її розвитку.

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

Дисертаційне дослідження Струтинської Олени Борисівни заплановано та виконано у Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова в рамках ініціативної наукової тематики кафедри біологічної та загальної хімії «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфідів 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.). Дисертантка є співвиконавцем вказаних науково-дослідних робіт.

Належний науковий рівень кваліфікаційної роботи забезпечений дотриманням усіх вимог до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії як на етапі її планування, так і на етапі її безпосереднього виконання – від обрання актуальної теми, визначення мети і конкретних завдань роботи, обрання методів досліджень, ретельною обробкою та аналізом результатів досліджень з їх порівнянням із сучасними даними літератури, достовірною статистичною обробкою та узагальненням отриманих результатів. Усі прилади, що використовувались у ході наукового дослідження, підлягали систематичному метрологічному контролю. Загалом дисертація виконана на високому науково-методичному рівні у відповідності до вимог стосовно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Вагомість та достовірність, новизна отриманих результатів підтверджується високим рівнем публікацій здобувача –загалом опубліковано 17 наукових праць, з них шість статей, з яких 5 – у фахових наукових виданнях України (категорії Б), 1 – у закордонному наукометричному періодичному виданні, отримано 2 патенти України на корисну модель. Публікації у вигляді 9 тез доповідей видані в матеріалах фахових вітчизняних і закордонних наукових форумів різного рівня.

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

Наукова новизна дисертації є беззаперечною, адже авторкою поглиблені сучасні уявлення щодо ролі нової сигнальної системи, асоційованою з гідроген сульфідом, у виникненні, прогресуванні діабетичного ураження нирок та ролі гідроген-сульфідної сигнальної системи в механізмах дії протидіабетичного препарату метформіну.

Дисертанткою показано, що за умов ЦД на тлі хронічної гіперглікемії в нирках формується дефіцит газотрансміттерної молекули гідроген сульфїду, порушується біодоступність гідроген сульфїду, що тісно пов'язано з ураженням

нирок. Показано, що розлади в системі гідроген сульфїду є важливою причиною розвитку фільтраційної недостатності, тубулярної дисфункції, порушень іонорегуляторної функції нирок, індукції запального процесу, апоптозу, оксидативного стресу в тканинах нирок та нефросклерозу.

У дисертаційній роботі виявлені нові аспекти механізму дії цукрознижувального препарату з групи бігуанїдів метформїну. Встановлено, що метформїн за ЦД покращує продукцію гідроген сульфїду в нирках, його біодоступність, що корелює з антиоксидантною, протизапальною, антиапоптотичною та антифіброгенною дією препарату. Також вперше встановлено, що застосування донору гідроген сульфїду в значній мірі потенціює нефропротекторні властивості метформїну, а також його гіпоглікемічну дію за ЦД.

Опубліковані праці повністю відображають зміст роботи, апробацію матеріалів дисертації зроблено на 9 з'їздах, конгресах і конференціях.

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

Слід зазначити, що експеримент є одним із найважливіших елементів практики і тому виступає як основа формування гіпотез і теорії і, разом з тим, це – критерій істинності теоретичних знань. Тому теорія є завжди визначальною стороною експерименту.

Експериментальне дослідження виконано Струтинською О. Б. на достатній кількості матеріалу – на 125 білих нелїнійних статевозрілих щурах-самцях, масою 200-240 г. У роботі використано комплекс експериментальних, біохімічних, імуноферментних, електрофізіологічних, морфологічних і математико-статистичних методів досліджень як класичних, так і сучасних, що дозволило досягнути поставленої мети та розв'язати чотири завдання на сучасному методичному рівні, і, в цілому, дало можливість здобувачці отримати вірогідні результати, дійти обґрунтованих чотирьох висновків.

Установлені факти проілюстровані високоінформативними рисунками і таблицями з опрацьованими методами статистичного аналізу цифровими даними, що сукупно є доказовим підтвердженням проведених досліджень, наочно демонструють їх матеріал та отримані наукові дані, підкреслюють високу ступінь обґрунтованості дисертаційних положень, чітко відображають патофізіологічні перетворення предмету досліджень та формують уяву щодо структурно-функціональних змін в досліджених органах та їхньої корекції за допомогою метформіну та середників модуляції утворення гідроген сульфїду. Зазначене вище дає підстави стверджувати про вірогідність отриманих результатів та обґрунтованість наукових положень та висновків, сформульованих у дисертаційному дослідженні.

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

Під час виконання дисертаційного дослідження здобувачка показала належне володіння методологією наукової діяльності як на етапі планування, так і під час безпосереднього виконання досліджень. Авторкою самостійно обрано тему, сформульовано мету та завдання дослідження, розроблено методологію дослідження, проведено патентно-інформаційний пошук та огляд літератури, статистичну обробку у ліцензійному програмному забезпеченні отриманих результатів та оформлено дисертацію, самостійно або за безпосередньої участі проведено експериментальні дослідження, особисто отримано всі результати дослідження. Основні положення роботи та висновки обговорені з науковим керівником і сформульовані авторкою самостійно.

На основі отриманих даних особисто написано й підготовлено до друку наукові публікації. Вважаю, що поставлене у дисертації наукове завдання виконане повністю, у відповідності до вимог щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

#### ***6. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.***

Теоретичне значення результатів дисертаційного дослідження Струтинської Олени Борисівни полягає у розширенні сучасних наукових уявлень щодо патохімічних та патофізіологічних чинників формування діабетичної хвороби нирок, молекулярних механізмів гіпоглікемічної та ренопротективної дії відомого протидіабетичного засобу метформіну.

Практичне значення роботи є беззаперечним, адже дисертанткою на основі дослідження ролі гідроген сульфід у механізмах нефропротекторної дії метформіну патогенетично обґрунтовано необхідність використання донорів гідроген сульфід з метою потенціювання гіпоглікемічної, протизапальної, антиапоптотичної, антиоксидантної та антифіброгенної дії метформіну за діабетичного ураження нирок.

Отримані нові дані нефропротекторної дії метформіну дають підстави для подальшої клінічної апробації нових схем лікування і профілактики ураження нирок при ЦД. Основні положення дисертаційної роботи впроваджено в практику наукових досліджень та навчальний процес на кафедрах чотирьох вишів України.

#### **7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.**

Виклад матеріалу в дисертації послідовний та логічний, написаний українською мовою, структурно відповідає існуючим вимогам. Зміст роботи викладений на 176 комп'ютерного друкованого тексту (120 сторінок основного тексту). При оформленні дисертації Струтинська О. Б. скористалася загально-прийнятими рекомендаціями і складається з анотацій, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження,

трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел (включає 225 найменувань, з них 22 кирилицею, 203 – латиницею) та додатків. Робота проілюстрована 38 рисунками та 21 таблицею.

В анотації у стислій формі наведені основні результати дослідження із акцентом на наукову новизну та практичне значення роботи. Анотація подана державною та англійською мовами, містить список публікацій за темою дослідження і за змістом відповідає дисертації.

У вступі дисертантка висвітлює актуальність проблеми, чітко формулює мету та завдання дослідження, відзначає зв'язок з плановими науково-дослідними роботами установи, особистий внесок у виконання роботи, наводить інформацію про апробацію результатів дослідження, кількість публікації та структуру дисертації.

В розділі «Огляд літератури» наведені дані аналізу великої кількості сучасних джерел інформації, яка присвячена вивченню основних аспектів патогенезу діабетичної нефропатії, ролі системи  $H_2S$  в механізмах розвитку діабетичної хвороби нирок, а також місце метформіну у фармакотерапії уражень нирок за ЦД. В цьому розділі висвітлені актуальні питання сьогодення, які потребують подальшого вивчення.

В розділі 2 «*Матеріали та методи дослідження*» детально представлена характеристика експериментальних тварин, розподіл їх за серіями експериментів. Досить чітко та лаконічно описані використані в роботі експериментальні моделі, біохімічні, імуноферментні, електрофізіологічні та морфологічні методи дослідження. Застосовані методи є сучасними, відповідають поставленим завданням і забезпечують досягнення встановленої мети. Проведені дослідження відповідають біоетичним і морально-правовим вимогам, що було підтверджено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №8 від 25.10.2018 р., протокол №4 від 18.05.2023 р.).



В розділах 3, 4, 5 наведені результати власних досліджень. Кожен із цих розділів добре ілюстрований таблицями та рисунками, закінчується коротким резюме, яке додатково підкреслює важливість та новизну одержаних результатів.

В розділі 3 *«Стан системи  $H_2S$  в нирках та рівень глікемії на тлі застосування метформіну та його комбінації з модуляторами обміну  $H_2S$  за експериментального цукрового діабету»* продемонстровано, що використання метформіну за експериментального ЦД виявляє потужну гіпоглікемічну активність та зменшує розлади метаболізму  $H_2S$  в нирках. Поряд з цим показано, що застосування модуляторів обміну  $H_2S$  мало різновекторний вплив на вказані ефекти метформіну. Так, введення донору  $H_2S$  – NaHS посилювало гіпоглікемічну дію метформіну, його здатність коригувати обмін  $H_2S$  в нирках та стимулювати  $H_2S$ -ініційовану вазодилатацію ниркових артерій, тоді як використання інгібітору пропаргілгліцину виявляло протилежний ефект.

У розділі 4 *«Біохімічні параметри стану нирок щурів на тлі застосування метформіну та його комбінації з модуляторами обміну  $H_2S$  за експериментального цукрового діабету»* показано, що використання метформіну за ЦД покращувало функціонування тубулярного та гломерулярного апаратів нирок, зменшувало секрецію альдостерону та електролітний дисбаланс, виявляло протизапальний, антиапоптотичний, антиоксидантний та антифіброгенний ефекти, що асоціювалось зі збільшенням запасів  $H_2S$  в нирках. Застосування NaHS потенціювало коригуючий вплив метформіну на функціонування нирок, тоді як введення пропаргілгліцину вірогідно зменшувало нефропротекторні властивості метформіну.

У розділі 5 *«Гістологічна структура нирок щурів на тлі застосування метформіну та його комбінації з модуляторами обміну  $H_2S$  за експериментального цукрового діабету»* авторкою показано, що застосування метформіну зменшувало ініційовані ЦД ультраструктурні зміни в нирках – нефросклероз, гіпертрофію клубочків, деструкцію ендотеліоцитів судин, запалення, дистрофію епітеліоцитів проксимальних каналців нефрона. Введення метформіну в комбінації з NaHS більш ефективно ніж монотерапія

коригувало пошкодження каналцевого та клубочкового апаратів нирок. В той же час за умов поєднання метформіну та пропаргілгліцину ультраструктурні зміни в нирках наближались до таких у нелікованих тварин з ЦД.

У розділі *«Аналіз та узагальнення результатів досліджень»* проаналізовані отримані результати та обговорені на сучасному науковому рівні із посиланням на достатню кількість вітчизняних та закордонних досліджень. Досить імпонує той факт, що у розділі наведена узагальнююча схема, яка значно полегшує сприйняття викладеного матеріалу.

Чотири висновки логічно і закономірно впливають зі змісту дисертації, відповідають меті та завданням дослідження, мають теоретичне та практичне значення. Висновки аргументовані, зауважень не викликають. Усі теоретичні узагальнення подані дисертанткою на основі аналізу отриманих даних власних досліджень. У списку цитованої літератури превалюють посилання на сучасні наукові дані за напрямом роботи, наведені публікації авторки за темою дисертації. У додатках міститься список публікацій дисертантки (із зазначенням індивідуального внеску), перелік та форми оприлюднень результатів, акти впровадження результатів дослідження (загалом 5).

Таким чином, представлена дисертація Струтинської Олени Борисівни побудована за класичною схемою, зміст та основні складові дисертації відповідають існуючим вимогам на здобуття ступеня доктора філософії, результати наведено та обговорено грамотно та аргументовано. У цілому дисертація є завершеною науковою працею.

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

Отримані результати дисертаційного дослідження можуть бути підґрунтям для подальших наукових досліджень при розробці патогенетичних засобів корекції порушень функцій нирок при ЦД та метаболічному синдромі. Перспективними в цьому напрямку можуть стати подальші експериментальні і

клінічні дослідження щодо можливостей застосування модуляторів утворення гідроген сульфїду для корекції захворювань нирок при ЦД.

Результати дисертаційної роботи можуть бути рекомендовані до використання при підготовці здобувачів на кафедрах біохімії, біології, медичної біології, фармакології, патофізіології у закладах вищої освіти, в роботі навчальних та науково-дослідних лабораторій при вивченні механізмів нефропротекторної дії лікарських засобів.

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

Загалом, серйозних і принципових недоліків щодо дисертаційної роботи Струтинської О. Б. не виявлено. Разом із загальною позитивною оцінкою роботи дозволять зупинитися конкретно на зауваженнях, здебільшого рекомендаційного характеру, та побажаннях:

1. Вимагає упорядкування застосування скорочень термінів. Так, не всі скорочення, які трапляються по тексту дисертації, включені до переліку умовних скорочень або розшифровані у тексті дисертації, наприклад АТ1, АТ2, АПФ, ІІ-6, ІІ-18 та деякі інші. Крім того, зустрічаються окремі терміни, які після першого застосування скорочення та внесення цього скорочення у «Перелік умовних скорочень», далі зрідка використовуються у нескороченому вигляді.

2. В описі змін структурної організації нирок доцільно використовувати загальноприйняті терміни проксимальний і дистальний «ниркові каналці» замість «ниркові трубочки», «збірні ниркові трубочки» замість «збірні протоки», низхідна і висхідна частини «петлі нефрона» замість «ніжки нефрона».

3. В розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень», на мій погляд, не варто повторювати мету та застосовану схему експерименту, зробивши більший акцент на обговоренні власних оригінальних даних з результатами інших авторів.

4. Враховуючи практичне значення отриманих результатів, можна було б розширити географію впроваджень власних даних у науково-педагогічну діяльність кафедр закладів вищої освіти України.

5. У рукопису дисертації є поодинокі орфографічні, граматичні та стилістичні помилки.

Наведені несуттєві зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертації та не знижують її наукової цінності. Основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи не підлягають сумніву.

У процесі рецензування виникли окремі **запитання**, на які хотілося б почути відповідь дисертантки в порядку наукової дискусії:

1. У роботі показано, що гіпоглікемічний засіб метформін виявляє ендотеліотропні властивості та збільшує кліренс креатиніну. Через які механізми реалізуються такі ефекти метформіну?

2. Вами встановлено, що донори гідроген сульфіді потенціюють нефропротекторну дію метформіну. Чи існують на сучасному фармацевтичному ринку лікарські препарати, які вивільняють гідроген сульфід, або є його донорами чи прекурсорами?

#### ***9. Дані про відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.***

Згідно перевірки на плагіат інтернет-системою StrikePlagiarism встановлено, що рівень оригінальності тексту дисертаційної роботи Струтинської О. Б. становить 85%. За перевіркою посилань комп'ютерною програмою визначено наявність окремих співпадінь з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на бібліографічні джерела інформації, загальноживаними словосполученнями. При детальному розгляді порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації) та текстових запозичень не виявлено. Усі ідеї та наукові положення, які викладені у дисертаційному дослідженні, належать дисертантці.

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

На підставі проведеного аналізу дисертаційної роботи Струтинської Олени Борисівни на тему: «Роль гідроген сульфїду в механізмах нефропротекторної дії метформїну за експериментального цукрового діабету», що представлена на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», можна стверджувати, що робота є завершеним науковим дослідженням в результаті якого отримані принципово нові дані і вирішено актуальне та сучасне наукове завдання стосовно оптимізації фармакотерапії діабетичної нефропатії за допомогою метформїну на основі вивчення ролі системи гідроген сульфїду в механізмах ураження нирок та нефропротекції.

Виходячи з актуальності теми, обсягу та рівня проведених досліджень, наукової новизни, теоретичної та практичної цінності отриманих результатів, аргументованості та об'єктивності висновків, практичних рекомендацій, особистого внеску здобувача, дисертаційна робота Струтинської Олени Борисівни повністю відповідає вимогам до оформлення дисертації, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 року та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

#### **Офіційний опонент:**

завідувач кафедри фармакології

Буковинського державного медичного університету МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

Ігор ЗАМОРСЬКИЙ

Підпис *Заморський*  
Завідувач кафедри фармакології  
Буковинського державного медичного університету



*Лілія Тоскінова*