

ВІДГУК

офіційного опонента

доктора біологічних наук, професора **Фіри Людмили Степанівни** на дисертаційну роботу «Стан енергетичного метаболізму та системи обміну гідроген сульфїду за умов експериментальної нефропатії і застосування глутатїону» **Ференчук Єлени Олександрівни**, подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Біологія» за спеціальністю «Біологія» (03.00.04 - біохімія)

Актуальність теми. Спектр ускладнень, які виникають під час нефропатій, за останні роки істотно розширився, повсюдно спостерігається тенденція до неухильного зростання числа хворих, тому лікування захворювань нирок, попередження їх ускладнень та виникнення супутніх хвороб є актуальним питанням сучасної медицини. За розвитку нефропатії виникають метаболічні порушення, що викликають генерацію вільних радикалів, які пошкоджують ліпідні та протеїнові компоненти клітини, зумовлюють утворення й накопичення ліпопероксидних сполук, посилюють процеси дестабілізації клітинних мембран, чим провокують розвиток супутніх ушкоджень інших органів.

Під час порушення функціональної здатності нирок як головний детокс-орган страждає печінка, особливо на тлі пригнічення антиоксидантного захисту організму. Саме тому дослідження дії сполук з гепатопротекторними та антиоксидантними властивостями за умов ушкодження нирок є важливим завданням. Глутатїон є ефективним антиоксидантом, має регулюючий вплив на клітинний апоптоз, бере участь у біогенезі кластерів заліза та сірки, глутатїонуванні мітохондрїальних протеїнів, кон'югації під час детоксикаційних процесів у печінці. Більша частина вмісту глутатїону плазми крові забезпечується його синтезом у печінці, тому порушення її функціональної активності призводить до системного міжорганного порушення гомеостазу глутатїону. Виходячи з цього, доцільним є дослідити ефективність застосування глутатїону при захворюваннях органів видільної системи, а також при захворюваннях, які супроводжуються ендогенною інтоксикацією. Експериментальна модель нефропатії, використана в проведеному дисертаційному дослідженні, за своїм перебігом повторює патологічні та адаптивні реакції, які спостерігаються за умов гострої ниркової

недостатності, тому вивчення впливу глутатіону на метаболічні шляхи організму за даних умов є досить перспективним.

Відомо, що у різних каталітичних, антиоксидантних та енергетичних процесах організму бере участь гідрогену сульфід (H_2S). За останні роки науковцями було встановлено антиоксидантні та протизапальні властивості H_2S , його участь у підтримці пулу глутатіону, але біохімічні механізми участі глутатіону у метаболізмі гідроген сульфідів є невивченим, але цікавим питанням, адже розуміння особливостей метаболічних шляхів за патофізіологічних умов допоможе підвищити ефективність лікування та профілактики нефропатій і їх ускладнень.

Вважаю, що дослідження, проведене Ференчук Є.О., своєчасне, цікаве, має важливе значення для розкриття взаємозв'язків між системою глутатіону, гідроген сульфідів та енергетичним метаболізмом у печінці при експериментальній нефропатії та за умов використання трипептиду для корекції виявлених порушень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом планових науково-дослідних робіт кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці) «Стрес-індуковані морфофункціональні та біохімічні зміни структур хроноперіодичної і гепаторенальної систем у ссавців» (№ державної реєстрації 0114U002472) та «Морфофункціональне і біохімічне обґрунтування дисфункцій нейросекреторних структур головного мозку й ендокринних залоз та гепаторенальної системи щурів при експериментальній патології, у віковому аспекті та шляхи її корекції» (№ державної реєстрації 0119U101346).

Авторка є співвиконавицею тем та виконала декілька розділів: стан оксидантно-антиоксидантної та енергопродукуючої систем печінки за умов нефропатії і введення глутатіону; стан системи утворення гідроген сульфідів в печінці за умов нефропатії і введення глутатіону; стан оксидантно-антиоксидантної системи та рівень гідроген сульфідів в крові за умов нефропатії і введення глутатіону.

Ступінь обґрунтованості основних положень і висновків сформульованих у дисертації. Сформульовані у дисертаційній роботі Ференчук Є.О., положення та висновки достатньою мірою обґрунтовані, базуються на статистично опрацьованому фактичному матеріалі, наведеному в роботі. Достовірність та обґрунтованість сформульованих у дисертації наукових положень і висновків зумовлена правильно обраними методичними підходами, достатньою кількістю експериментальних тварин (131 білий щур), використанням сучасних, інформативних методів дослідження, що відповідають поставленій меті та завданням роботи, а також захищено аналітичними методами статистики.

Достовірність основних наукових положень, висновків, проведених наукових досліджень та одержаних результатів. Сформульовані дисертанткою основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань біохімічних методах. Варіаційно-статистичне опрацювання отриманих результатів здійснювали за допомогою непараметричного критерія Вілкоксона. Отримані результати досліджень, їх аналіз та сформульовані наукові положення – як достовірні, чітко сформульовані і цілком аргументовані. Серед біохімічних методів було використано такі, як центрифугування, спектрофотометричні, фотоколориметричні для визначення активностей ензимів стану антиоксидантної системи, ензимів системи енергозабезпечення і синтезу гідроген сульфїду, вмісту окисномодифікованих протеїнів, активних продуктів тіобарбітурової кислоти, концентрації та продукції гідроген сульфїду.

Адекватність обраних методів дозволяє оцінити одержані результати, основні наукові положення та висновки глибоких за змістом досліджень, проведених Ференчук Є.О. як достовірні.

Дисертаційна робота пройшла антиплагіатну перевірку за допомогою програмного забезпечення «Antiplagiarism», унікальність тексту становить 79%, що дозволяє стверджувати відсутність порушень академічної доброчесності в дисертації. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Дослідження проводились відповідно до етичних норм: при виконанні роботи керувалися принципами біоетики щодо проведення наукових досліджень відповідно до положень Директиви Європейського союзу 2010/63 EU про захист тварин, що використовуються у наукових цілях. Тварин виводили з експерименту відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609 ЄС).

Новизна основних наукових положень, висновків, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів. Наукова новизна дисертаційного дослідження полягає у вперше проведеному комплексному дослідженні окисдантно-антиоксидантного стану, системи енергозабезпечення гепатоцитів, вмісту гідроген сульфїду й ензимів його утворення за умов експериментальної нефропатії, індукованої введенням фолієвої кислоти, та вивченні впливу глутатіону на виявлені зміни.

Уперше на основі теоретичного підходу та експериментального дослідження розкриті особливості системи енергозабезпечення печінки щурів за умов нефропатії та застосування глутатіону, продемонстровано здатність глутатіону (при введенні у дозі 100 мг/кг маси тіла впродовж 3 днів та 7 днів) нормалізувати біохімічні показники сироватки крові при експериментальній нефропатії у щурів.

Встановлено, що нефропатія призводить до змін в окисдантно-антиоксидантній системі печінки, про що свідчить підвищений вміст ТБК-реактивних продуктів (на 27% до кінця експерименту), зниження концентрації глутатіону (на 23% через 7-й днів експерименту), активності глутатіон-S-трансферази і глутатіонпептидази та кількості SH-груп (на 33% на 7-й день експерименту) у мітохондріях. Виявлено коригуючу дію глутатіону на розвиток окисдантивного стресу у гепатоцитах за умов нефропатії.

Введення глутатіону збільшувало активності сукцинатдегідрогенази на 31% та H^+ -АТФ-ази на 20% ($p < 0,05$) на 3-й експериментальний день, і на 17,7% та 26,7% ($p < 0,05$) відповідно – на 7 добу експерименту порівняно з групою щурів із нефропатією. Уперше виявлено, що введення глутатіону сприяє зростанню продукції й вмісту гідрогену сульфїду та підвищенню активності H_2S -генеруючих

ензимів у печінці щурів із нефропатією завдяки включенню трипептиду як джерела цистеїну в процесі синтезу гідроген сульфїду, а також завдяки його детоксикаційним та антиоксидантним властивостям. Після 3-х та 7-денного введення глутатіону щурам з нефропатією спостерігалось зростання концентрації гідроген сульфїду на 48,4% і 43% ($p < 0,01$) та його продукції на 36,3% і 36% ($p < 0,01$), збільшення гідроген сульфїд-продукуючої активності цистатіонін- β -синтази – на 33,5% та 27%, цистеїнамінотрансферази – на 49,3% і 49,7% на 3-й та 7-й день відповідно, а також цистатіонін- γ -ліази на 31% за умов 3-денного експерименту.

Дисертанткою уперше встановлено взаємозв'язок між метаболічними шляхами глутатіонової системи та синтезом гідрогену сульфїду. Експериментально доведено, що для корекції активностей антиоксидантних та енергопродукуючих ензимів, регуляції обміну гідроген сульфїду за умов експериментальної нефропатії семиденне введення глутатіону є оптимальним.

Практичне значення одержаних результатів. Доведено доцільність визначення вмісту креатиніну для раннього діагностування стану нирок та підтвердження моделі нефропатії.

Оформлено патент на корисну модель щодо способу корекції біохімічних показників сироватки крові при експериментальній нефропатії у щурів шляхом внутрішньошлункового введення глутатіону у дозі 100 мг/кг маси тіла.

Результати дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес кафедри медичної біохімії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків в опублікованих працях. За матеріалами дисертації Ференчук Є.О. опубліковано 12 наукових праць, в яких повністю викладено основні наукові положення і прикладні результати роботи, у тому числі 6 статей у фахових виданнях (5 – у наукових

виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 1 стаття – у закордонному виданні, 3 статті опубліковано в журналах, які належать до Міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 5 тез доповідей, 1 патент на корисну модель.

Наукові положення, висновки, які сформульовані в дисертації достатньо повно відображені в опублікованих роботах, матеріали дисертаційної роботи пройшли апробацію на наукових вітчизняних та міжнародних конференціях, з'їздах, конгресах, симпозиумах.

Структура дисертації. Дисертаційна робота Ференчук Є.О. написана літературною українською мовою, є достатньо ілюстрованою, побудована за загальноприйнятим планом: зміст, вступ, огляд літератури, матеріали і методи, опис результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, перелік використаних літературних джерел. Основу дисертаційної роботи складають науково обґрунтована робоча концепція та унікальний фактичний матеріал, який має глибоку доказову базу.

У "Вступі" авторка переконливо обґрунтовує необхідність проведення даного дослідження, чітко визначено мету і задачі, виділено наукову новизну і практичне значення роботи.

Проведений авторкою огляд літературних джерел підкреслює актуальність обраної теми. Огляд літератури написаний із залученням значної кількості сучасних іноземних наукових джерел з досліджуваної тематики та є теоретичною базою для експериментальних розділів дисертаційної роботи. У розділі узагальнено сучасні наукові дані про механізми ушкодження нирок, розглянуто особливості енергетичних процесів, проаналізовано сучасні відомості про застосування екзогенного глутатіону та його потенційну роль для корекції різноманітних патологій, описано синтез та ефекти H_2S , зокрема його вплив на біоенергетичну функцію клітин.

У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» авторка наводить детальну характеристику використаних методик. Усі методи дослідження використані якісно, на сучасному рівні.

У розділах 3, 4 та 5 описано результати дослідження, зроблено їх аналіз. Кожен розділ завершується коротким висновком результатів досліджень та переліком праць, опублікованих за темою розділу.

В останньому розділі роботи авторкою узагальнено отримані результати роботи та наголошено на змінах, які спостерігалися у оксидантно-антиоксидантній системі крові та печінки, системі енергозабезпечення та обміну гідроген сульфід у гепатоцитах за умов нефропатії та за умов застосування глутатіону; виокремлено найважливіші теоретичні та практичні результати роботи. Наведено схему взаємозв'язку глутатіону зі системою синтезу гідроген сульфід.

Запитання та зауваження до автора щодо змісту та оформлення дисертації.

1. В огляді літератури авторка дає забагато схем, які відомі науковій спільноті (наприклад, схема синтезу АТФ у мітохондріях).
2. У розділі 2 «Матеріал та методи дослідження» не доцільно описувати детально хід роботи при описі деяких методик. Достатньо обмежитись принципом методу та посиланням на автора, так як ці методи є загальновідомими. У цьому ж розділі не для всіх ензимів наведено К.Ф. (наприклад, АлАТ, ГГТП).
3. Корекції потребують висновки до роботи, вони занадто громіздкі та зацифровані.
4. Зустрічаються граматичні та стилістичні неточності.

Необхідно підкреслити, що вказані вище зауваження не знижують позитивної оцінки дисертації в цілому і не впливають на значимість результатів, отриманих дисертанткою.

Оцінюючи дисертаційну роботу Ференчук Є.О. в цілому позитивно, є запитання та зауваження, які виникли в процесі рецензування роботи:

1. Які, на Вашу думку, механізми впливу екзогенного глутатіону на систему енергозабезпечення?
2. Які механізми взаємозв'язку систем гідроген сульфід, глутатіону та антиоксидантного захисту?

Висновок

Вважаю, що за актуальністю проблеми, яка вирішувалась, значним обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю одержаних результатів робота Ференчук Є.О. на тему «Стан енергетичного метаболізму та системи обміну гідроген сульфідом за умов експериментальної нефропатії і застосування глутатіону» відповідає п. 10 «Вимоги до рівня наукової кваліфікаційної роботи», «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 року №167 щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Біологія» (спеціальність 091 «Біологія»), а її авторка, Ференчук Єлена Олександрівна, заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора філософії.

Офіційний опонент

Завідувач кафедри фармації факультету
післядипломної освіти
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського, д.б.н., професор

Л.С. Фіра

Особистий підпис

Заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

