

**Відгук**  
**офіційного опонента на дисертаційну роботу**  
**Ференчук Єлени Олександрівни**  
**«СТАН ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА СИСТЕМИ ОБМІНУ**  
**ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ**  
**НЕФРОПАТІЇ І ЗАСТОСУВАННЯ ГЛУТАТІОНУ»,**  
**представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за**  
**спеціальністю 091-біологія**

*1. Актуальність теми.* Дисертаційна робота Ференчук Єлени Олександрівни присвячена дослідженню механізмів порушення енергетичного обміну та функціонування системи синтезу гідроген сульфід у печінці за умов експериментальної нефропатії. Важливість проведення такого роду досліджень обумовлена тим, що на захворювання нирок страждають 350 з кожних 10 тисяч людей. Розвиток гострих та хронічних захворювань нирок, внаслідок синдрому уремії призводить до токсичного ураження організму і, відповідно, порушенням функціонування головного органу детоксифікації – печінки. Формування функціональних порушень гепатоцитів може бути пов'язано з розвитком окиснювального стресу та виснаження систем антиоксидантного захисту. Саме тому останні десятиліття науковцями проводиться пошук ефективних антиоксидантів для попередження та захисту організму від наслідків окиснювального стресу у клітинах за умов патологій. Дисертант передбачає, що таку функцію може виконувати екзогенний глутатіон.

Серед важливих модуляторів антиоксидантного статусу гепатоцитів можна виділити і гідрогену сульфід. При цьому відомо, що існують тісні метаболічні зв'язки глутатіонової системи та системи обміну  $H_2S$ . Проте вплив глутатіону на стан системи обміну гідроген сульфід за умов нефропатії залишається вивченим недостатньо. З'ясування механізмів формування змін продукування  $H_2S$  та його вплив на формування окисного стресу та гіпоенергетичного стану у гепатоцитах за умов нефропатії важливе для пошуку ефективних засобів

корекції метаболічних порушень. Дисертаційна робота спрямована на вирішення цих питань, що зумовлює її доцільність та своєчасність.

## ***2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.***

Дисертаційна робота 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).

## ***3. Ступінь обґрунтованості основних положень і висновків сформульованих у дисертації.***

Сформульовані основні наукові положення та висновки обґрунтовані достатньою кількістю експериментальних досліджень, які проведено на 131 білих лабораторних щурах та підтверджуються всією сукупністю результатів досліджень, отриманих та обговорених із залученням вітчизняних та зарубіжних джерел, загалом список літератури охоплює 205 найменувань, з них кирилицею – 22, латиницею – 183. Отримані дані опрацьовані сучасними статистичними методами аналізу.

Перелічене вище дозволяє оцінити одержані результати наукового дослідження, основні наукові положення і висновки як обґрунтовані та вірогідні.

## ***4. Достовірність основних наукових положень, висновків, проведених наукових досліджень та одержаних результатів.***

Сформульовані Ференчук Є.О. основні наукові положення та висновки ґрунтуються на використанні адекватних щодо поставлених завдань методів: біохімічних, морфологічних та методах статистичного аналізу, тобто автором

було використано комплексний підхід до розв'язання наукової проблеми та завдань.

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

Дослідження проводились відповідно етичних норм та з дотриманням положень Директиви Європейського союзу 2010/63 EU про захист тварин, що використовуються у наукових цілях. Дотримання зазначених вимог засвідчено висновком комісії з питань біоетики ВДНЗ України «Буковинського державного медичного університету (протокол № 2 від 20.10.2016 р.).

Дисертаційна робота пройшла перевірку за допомогою програмного забезпечення «Antiplagiarism», унікальність тексту становила 79%.

***5. Новизна основних наукових положень, висновків, а також проведених наукових досліджень та одержаних результатів.***

Автором уперше проведено комплексне дослідження оксидантно-антиоксидантного стану, системи енергозабезпечення гепатоцитів, вмісту гідроген сульфїду й ензимів його утворення за умов експериментальної нефропатії, індукованої введенням фолієвої кислоти, проаналізовано вплив глутатіону на виявлені зміни.

Виявлено пригнічення активностей NADH-дегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, цитохромоксидази,  $H^+$ -АТФ-ази дихального ланцюга мітохондрій гепатоцитів, і порушення синтезу АТФ за умов нефропатії. Уведення екзогенного глутатіону збільшувало активності сукцинатдегідрогенази на 31% ( $p < 0,05$ ) та  $H^+$ -АТФ-ази на 20% ( $p < 0,05$ ) на 3-й експериментальний день, і на 17,7% ( $p < 0,05$ ) та 26,7% ( $p < 0,05$ ) відповідно – на 7 добу експерименту порівняно з щурами з нефропатією, що є важливим критерієм гепатопротекції за умов прогресування ниркової дисфункції.

Доведено, що в печінці щурів із нефропатією зменшуються  $H_2S$ -продукуючі активності ензимів: цистатіонін- $\gamma$ -ліази (на 38,98% ( $p < 0,01$ ) – 3-й та 31% ( $p < 0,01$ ) – 7-й день експерименту), цистатіонін- $\beta$ -синтази (на 33,73% ( $p < 0,01$ ) – 3-й та 32,12% ( $p < 0,01$ ) – 7-й день експерименту), цистеїн-

амінотрансферази (на 26,76% ( $p < 0,01$ ) – 3-й та 32,7% ( $p < 0,01$ ) – 7-й день експерименту), що зумовлює зниження концентрації (на 37,92% ( $p < 0,01$ ) – 3-й та 45,3% ( $p < 0,01$ ) – 7-й день експерименту) та продукції гідроген сульфід (на 34,84% ( $p < 0,01$ ) – 3-й та 27,8% ( $p < 0,01$ ) – 7-й день експерименту) за умов нефропатії порівняно з контрольною групою тварин.

Уперше з'ясовано, що введення глутатіону сприяє зростанню продукції і вмісту гідроген сульфід та підвищенню активності  $H_2S$ -генеруючих ензимів у печінці щурів із нефропатією завдяки можливого включення трипептиду як джерела цистеїну в процеси синтезу гідроген сульфід, а також завдяки його детоксикаційним та антиоксидантним властивостям. Після 3-х та 7-денного введення глутатіону щурам з нефропатією спостерігалось зростання концентрації гідроген сульфід на 48,4% ( $p < 0,01$ ) і 43% ( $p < 0,01$ ) та його продукції на 36,3% ( $p < 0,01$ ) і 36% ( $p < 0,01$ ).

Уперше встановлено взаємозв'язок між метаболічними шляхами глутатінової системи та синтезом гідроген сульфід.

### ***6. Практичне значення одержаних результатів.***

Матеріали проведених досліджень стосовно біохімічних механізмів формування патологічних змін у печінці при експериментальній у щурів можуть слугувати теоретичним підґрунтям для проведення подальших досліджень з метою упередження розвитку гепатиту та цирозу за аналогічних умов у людей.

Автором поглиблено теоретичні уявлення щодо механізмів дії глутатіону за умов нефропатії можуть бути теоретичною основою для подальшого вивчення можливостей застосування глутатіону з нефро- та гепатопротекторною метою за умов захворювань нирок. Запатентовано спосіб корекції біохімічних показників сироватки крові при експериментальній нефропатії у щурів шляхом внутрішньошлункового введення глутатіону у дозі 100 мг/кг маси тіла.

Вважаю, що отримані результати можуть у подальшому знайти застосування у практичній медицині у терапії пацієнтів з гострими та

хронічними захворюваннями нирок. А також результати проведених досліджень можуть бути використаними у навчальному процесі при підготовці студентів біологів та медиків.

#### ***7. Повнота викладу основних наукових положень, висновків і опублікованих праць та в авторефераті.***

Дисертант є автором 12-ти наукових праць, з них 6 статей (5 – у наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України, 1 стаття – у закордонному виданні, три статті опубліковано в журналах, які належать до Міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 5 тез доповідей у матеріалах з'їздів та конференцій, 1 патент на корисну модель.

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

#### ***8. Структура дисертації.***

Дисертація побудована відповідно до сучасних вимог і включає: анотацію, вступ, огляд літератури, розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку літератури. Її загальний обсяг становить 156 сторінок.

У "Вступі" переконливо обґрунтовується необхідність проведення даного дослідження, чітко визначено його мету і задачі, виділено наукову новизну і практичне значення роботи, апробацію та впровадження результатів дослідження.

В "Огляді літератури", який складається з 5 підрозділів, представлено аналіз літературних джерел останніх років стосовно сучасних уявлень про механізми виникнення гострих та хронічних захворювань нирок та моделювання нефропатій у експериментальних дослідженнях, антиоксидантні властивості та механізми дії глутатіону його вплив на функціонування мітохондрій, синтез та біохімічну роль гідроген сульфіді. Недоліком цього розділу вважаю дещо надмірну увагу приділену будові дихального ланцюга

мітохондрій та функціонуванню системи глутатіону за умов норми, адже ця інформація є загальновідомою і описаною в більшості підручників.

Розділ "Матеріали і методи дослідження" написано кваліфіковано. Детально викладено дизайн експериментів, обрано методики, що відповідають поставленим цілям та є сучасними, використані методики достатньою мірою описані.

У розділі 3 «Результатів власних досліджень» автором переконливо доведено формування нефропатії за умов введення високих доз фолієвої кислоти, представлено біохімічні показники сироватки крові за умов експериментальної нефропатії та застосування глутатіону, показано зміни оксидантно-антиоксидантного стану в крові за таких умов. Недоліком вважаю відсутність даних біохімічних досліджень проведених в тканинах нирок. У розділі 4 описано стан системи енергозабезпечення печінки за умов нефропатії та застосування глутатіону. У розділі 5 представлено зміни стан системи обміну гідроген сульфідом за умов нефропатії та застосування глутатіону. У розділі 6 "Обговорення результатів дослідження та їх узагальнення" автор оцінює та зіставляє отримані дані із літературними. До недоліків цього розділу вважаю слід віднести відсутність загальної схеми, яка б охоплювала всі ланки проведених досліджень та наводила найвагоміші здобутки автора. Основні положення дисертаційної роботи відображені у 5-ти висновках, які логічно витікають з отриманих результатів, дають відповіді на питання, поставлені дослідником. Проте фразу, використану в висновку 1 «Застосування глутатіону регулює метаболізм через GSH-залежні шляхи» вважаю аж надто очевидною і такою, що потребувала б корекції, а в висновку 5 пояснений вплив глутатіону на показники системи  $H_2S$  в печінці щурів із нефропатією у якості джерела цистеїну, для чого не було проведено відповідних доказових досліджень, що стосувалися б змін концентрації цистеїну.

***9. Запитання та зауваження до автора щодо змісту та оформлення дисертації.***

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

1. Чи не чинить тривале введення високих доз фолієвої кислоти щурам самостійної гепатотоксичної дії, адже фолієва кислота накопичується саме у гепатоцитах? І за таких умов отримані дані могли б трактуватись інакше і не були б пов'язані з метаболічними змінами при нефропатії.
2. Якими фактичними показниками обґрунтоване Ваше твердження «перепрограмування метаболічних процесів гепатоцитів за умов нефропатії у мітохондріях проявляється зміною їх функціональної направленості від синтезу АТФ до цитоплазматичного гліколізу...»?
3. Як пояснити те, що введення глутатіону чинило активний вплив на показники активності 1-го та 2-го комплексів дихального ланцюга, але не впливало на активність 4 комплексу в мітохондріях гепатоцитів за умов моделювання нефропатії?
4. Чому введення глутатіону підвищувало активність цистеїнамінотрансферази більшою мірою, ніж інших ензимів синтезу  $H_2S$  та навіть перевищувало показники активності контрольної групи тварин?
5. Робота містить окремі стилістичні неточності, зокрема вважаю некоректними вислови «7-ми денна нефропатія», чи «фолієва нефропатія», а також вважаю за потрібне провести уніфікацію усіх використаних аббревіатур до одного стандарту.

Висловлені зауваження не знижують позитивної оцінки дисертації в цілому, а також розроблених автором основних наукових положень, висновків та отриманих результатів проведених досліджень.

#### **Висновок**

Вважаю, що дисертаційна робота Ференчук Єлени Оленксандрівни "Стан енергетичного метаболізму та системи обміну гідроген сульфідом за умов експериментальної нефропатії і застосування глутатіону" за актуальністю проблеми, яка вирішувалась, значним обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичною та практичною значимістю одержаних результатів робота

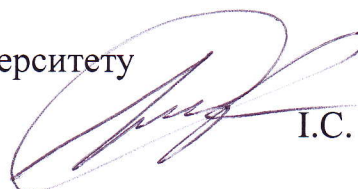
відповідає п. 10 «Вимоги до рівня наукової кваліфікаційної роботи», «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 року №167 щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Біологія» (спеціальність 091 «Біологія»), а її авторка, Ференчук Єлена Олександрівна, заслуговує на присудження їй наукового ступеня доктора філософії.

**Офіційний опонент**

Професор кафедри біологічної хімії

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького, д.б.н.




І.С. Фоменко

Вчений секретар

Львівського національного  
медичного університету

імені Данила Галицького



С.П. Ягело