

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора

НЕПОРАДИ КАРИНЕ СТЕПАНІВНИ,

завідувача кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного

медичного університету, на дисертаційну роботу

БОБЕЦЬКОЇ ОЛЕНИ ПИЛИПІВНИ

«Роль модуляторів обміну гідроген сульфід у механізмах ушкодження серцево-судинної системи та кардіопротекції за експериментального ожиріння»,

представлену до захисту у разову спеціалізовану Вчену раду ДФ 05.600.118

Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ

України, що утворена згідно наказу № 61 від 3 червня 2024 року для розгляду

та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора

філософії в галузі знань – 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222

– «Медицина»

1. Ступінь актуальності обраної теми

На теперішній час близько 2 млрд населення мають зайву вагу та 650 млн дорослих – ожиріння, що більшістю експертів вважається пандемією сторіччя та провідним захворюванням «хвороб цивілізації». Загально відомо, що ожиріння є фактором ризику захворювань серцево-судинної системи, зокрема, артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, кардіоміопатії та інші. У патогенезі кардіосудинних ускладнень за умов ожиріння доведено провідну роль ендотеліальної дисфункції, ремоделювання та гіпертрофію міокарду, проатерогенну дисліпідемію, інсулінорезистентність. Гідроген сульфід, який залучений до регуляції судинного тонуусу, імунозапальних та фібротичних процесів може відігравати провідну роль у патогенезі серцево-судинних ускладнень за умов ожиріння. Відомо, що порушення ендогенної продукції гідроген сульфід інтегровані у патогенез ураження серця та

судин різного генезу, а донори сірководню демонструють кардіо- та ендотеліопротекторний ефекти. Між тим, зміни та роль системи гідроген сульфід у серцево-судинній системі при ожирінні остаточно не вивчені і доцільність та можливості корекції цієї метаболічної ланки за ожиріння невідомі. Виходячи з цього, дисертаційна робота Бобецької О.П., присвячена вивченню ролі сірководню у розвитку патологічних змін серцево-судинної системи за умов ожиріння та модуляція обміну гідроген сульфід для кардіопротекції, є актуальною та своєчасною.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача

Дисертаційна робота виконана у рамках планової науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (№ ДР 0119U001142). Автор є співвиконавцем вказаної теми.

Дисертаційна робота Бобецької О.П. ґрунтується на експериментах, в яких використано 140 білих нелінійних статевозрілих щурів-самців, які утримувались у віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Відповідно до поставленої мети та завдань здобувачка сформувала експериментальні групи, здійснила підбір сучасних інформативних методів дослідження. Усі експерименти було проведено з дотриманням правил біоетики, про що свідчить висновок комісії з питань біомедичної етики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 8 від 25.10.2018, № 4 від 01 квітня 2024). У дисертаційній роботі використовувались методи: біохімічні (рівень H_2S , активність ензимів обміну H_2S), імуноферментні (рівні вісфатину, адипонектину, ФНП α , ендотеліну-1), молекулярно-генетичні (рівень експресії гена цистатіонін- γ -ліази), антропометричні (маса тіла, ІМТ, індекс Лі, маса жиру, індекс ожиріння), морфологічні, статистичні.

Усі результати проведених досліджень статистично опрацьовані і результати цього аналізу наведені в тексті та таблицях. Наукові положення та висновки

обґрунтовані, достовірні, впливають із поставлених завдань і 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.

Бобецька О.П. доповнила наукові положення про роль метаболізму гідроген сульфїду в механізмах ушкодження серцево-судинної системи та встановила зв'язок між сірководнем та кардіометаболічними чинниками, з'ясувала H_2S -модулюючий потенціал та нові механізми дії кофакторів сульфїдного обміну у корекції ушкоджень міокарду за умов ожиріння. Доведено, що за умов ожиріння, індукованого висококалорійною дієтою характеризується порушеннями сульфїдного обміну в серцево-судинній системі: формується дефіцит сірководню в міокарді та аорті, знижується активність цитозольних та мітохондріальних ензимів обміну сірководню, пригнічується експресія гена цистатіонін- γ -ліази. Бобецька О.П. вперше довела, що за умов ожиріння α -ліпоєва кислота, цинк сульфат, натрій тіосульфат коригують вміст гідроген сульфїду в міокарді та аорті і не поступаються донору H_2S - $NaHS$, а за впливом на мітохондріальні ензими сульфїдного обміну перевершують його. Обґрунтовано, що ожиріння асоціюється з розвитком кардіометаболічних порушень: гіпервісфатинемією, гіпоадипонектинемією зі значущим посиленням адипокінового дисбалансу; атерогенною дисліпідемією; гіперцистеїнемією з помірним зменшенням сироваткового рівня H_2S та зниженням відношення H_2S / цистеїн. Вперше доведено, що $NaHS$, α -ліпоєва кислота і цинк сульфат зменшують дисадипокінемію; зменшують гіперцистеїнемію і коригують відношення H_2S / цистеїн в сироватці крові. Інгібітор

цистатіонін- γ -ліази пропаргілгліцин посилює дисадипокінемію, дисліпідемію, викликає гіпоцистеїнемію, суттєво знижує сироватковий рівень H_2S та відношення H_2S / цистеїн.

Бобецька О.П. вперше довела, що за умов ожиріння індукованого висококалорійною дієтою зниження рівня ендogenousого сірководню і пригнічення експресії гена цистатіонін- γ -ліази в серцево-судинній системі тісно асоціюються з підвищенням вмісту в міокарді вісфатину і ФНПа та в сироватці крові - ендотеліну1. Кофактори мітохондріальних ферментів обміну сірководню та його донора – $NaHS$ сприяють кардіокорекції за умов ожиріння індукованого висококалорійною дієтою. Основний зміст, положення та висновки дисертаційного дослідження повністю висвітлені у 17-ти наукових публікаціях, з яких 4 статті – у наукових фахових виданнях України, 10 тез – у матеріалах наукових міжнародних і національних з'їздів, конгресів, конференцій, 2 патенти України на корисну модель (№143133; 143134), 1 свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір.

4. Наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації 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 кардіоваскулярної дисфункції за експериментального ожиріння. Дослідження базувалось на вивченні комплексу біохімічних параметрів в міокарді, аорті та плазмі крові, які характеризують різні шляхи обміну H_2S , продукцію профіброгенних та прозапальних медіаторів, визначенні експресії гену ензиму транссульфування *CSE*; оцінці соматометричних маркерів ожиріння та дослідженні мікроскопічних змін у міокарді та аорті у 140 щурів з експериментальним 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 № 8 від 25.10.2018, № 4 від 01 квітня 2024) 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). В цілому наукова обґрунтованість отриманих результатів, положень та висновків дисертації не викликає сумнівів.

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

Упродовж виконання поставленого наукового завдання здобувач у повній мірі та на високому рівні оволоділа методологією наукової діяльності. На етапі підготовки до планування дисертаційного дослідження здобувач виконала патентноінформаційний пошук, розробила план дослідження, сформулювала мету та завдання, визначила перелік необхідних методів дослідження та експериментальних моделей. У процесі виконання дослідження дисертант оволоділа 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 біології та медицини, 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

За результатами біохімічних та морфологічних досліджень встановлено, що регуляція метаболізму гідроген сульфідну є ефективною стратегією метаболічної кардіопротекції за умов ожиріння. Показано, що здатність коригувати рівень H_2S , показники сульфідного обміну, рівні адипокінів в серцево-судинній системі на тлі висококалорійної дієти інтегрована в механізми дії ліпоєвої кислоти, цинк сульфату, натрій тіосульфату. При моделюванні ожиріння в якості біохімічних маркерів кардіометаболічних порушень та оцінки ефективності метаболічних коректорів доцільно розраховувати індекс дисадипокінемії (B/A) та індекс H_2S / цистеїн.

Практичне значення результатів дослідження підтверджується 2 патентами України на корисні моделі (№143133; №143134) та авторським свідоцтвом на твір (№122462).

Результати дослідження використовуються в науковій роботі та навчальному процесі кафедр біохімії ім. професора О.О. Пентюка, фармакології, патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри біохімії навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету, кафедри біологічної та біоорганічної хімії Полтавського державного медичного університету.

7. 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 кардіопротекторної дії лікарських засобів, які реалізуються через систему H_2S .

8. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому

Дисертація викладена українською мовою на 213 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних літературних джерел, що включає 362 найменування (з них 331 латиницею), додатків. Робота ілюстрована 26 таблицями та 49 рисунками.

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 «Біохімічні механізми ураження серця та судин за ожиріння, перспективи корекції модуляторами обміну гідроген сульфідом (огляд літератури)» наведений детальний аналіз сучасної наукової літератури з проблеми, описані біохімічні механізми ушкодження серцево-судинної системи за ожиріння, особливості обміну та фізіологічна роль H₂S, роль системи H₂S в патогенезі ожиріння, фізіологічна роль потенційних модуляторів обміну H₂S, сучасні погляди на роль іонів цинку, ліпоєвої кислоти, натрій гідроген сульфідом та натрій тіосульфатом в регуляції метаболічних процесів та кардіопротекції.

Автором висвітлені невирішені та дискусійні аспекти проблеми, що обґрунтовують вибір дисертантом напрямку досліджень, його конкретної мети та

завдань. Розділ викладено на 25 сторінках, ілюстровано 7 рисунками та 1 таблицею, 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 (основної та 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 міокарді та аорті щурів, біохімічні методи досліджень показників сульфідного обміну, маркерів запалення, фіброзу, ліпідного спектру сироватки крові, методика дослідження експресії гену ензиму 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 10 сторінках, ілюстровано 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.

У розділі 3 «Стан системи гідроген сульфід у серцево-судинній системі щурів за експериментального ожиріння та дії модуляторів сульфідного обміну» Бобецька О.П. обґрунтувала, що за умов ожиріння індукованого висококалорійним харчуванням відбувається формування дефіциту гідроген сульфід у серцевосудинній системі щурів, що асоціюється зі зниженням активності ключових ферментів продукцію сірководню та пригніченням активності мітохондріальних ензимів, залучених у процеси окиснення та депонування сірководню, зниженням рівня

міокардіальної та судинної експресії гена цистатіонін-γ-ліази. Розділ викладено на 16 сторінках, містить 4 підрозділи, ілюстрований 11 рисунками та 7 таблицями.

У розділі 4 «Вплив модуляторів обміну H_2S на кардіометаболічні чинники за експериментального ожиріння» уперше отримані фактичні результати порівняльного дослідження впливу цинк сульфату, α -ліпоєвої кислоти, натрій тіосульфату, натрій гідроген сульфід, пропаргілгліцину на різні ланки обміну H_2S , а саме на активність ензимів транссульфування та рівень експресії гену цистатіонін-γ-ліази, активність мітохондріального обміну H_2S та його похідних (тіосульфаттіолсульфуртрансферази, тіоредоксинредуктази, сульфітоксидази). Показаний зв'язок між показниками обміну H_2S та рівнем прозапальних, профіброгенних та ліпогенних медіаторів (вісфатину, $TNF\alpha$, ендотеліну-1) в серцево-судинній системі та сироватці крові щурів за умов ожиріння, а також вплив метаболічних коректорів (модуляторів обміну H_2S) на їх продукцію у міокарді. Автором уперше показано, що усі включені у дослідження засоби виявили здатність коригувати обмін H_2S в серцево-судинній системі, однак найбільш виразний ефект справляли цинк сульфат та ліпоєва кислота. Розділ викладено на 27 сторінках, містить 4 підрозділи, ілюстрований 12 рисунками та 12 таблицями.

У розділі 5 «Вплив модуляторів обміну H_2S на рівні профіброгенних, прозапальних медіаторів та морфологічні зміни в серці щурів за експериментального ожиріння» Бобецькою О.П. встановлено, що формування експериментального ожиріння супроводжується розвитком кардіоваскулярної дисфункції, про що переконливо свідчить розвиток гіпервісфатинемії, гіпоадипонектинемії, підвищення рівня сироваткового ендотеліну-1, зростання рівнів вісфатину й фактору некрозу пухлин α в міокарді. Морфологічно підтверджено, що за експериментального ожиріння найкращий кардіопротекторний ефект виявили цинк сульфат та ліпоєва кислота. Натрій тіосульфат та натрій гідроген сульфід також зумовлюють помірне зменшення мікроскопічних ознак кардіоміопатії ожиріння. Розділ викладено на 24 сторінках, містить 2 підрозділи, ілюстрований 17 рисунками та 4 таблицями.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» Бобецька О.П. пояснює отримані результати на основі їх порівняння з даними інших авторів, що свідчить про її високий фаховий рівень та набуті компетенції науково-дослідної роботи. Розділ завершується розробленою автором, інформативною схемою, яка ілюструє участь системи H_2S в механізмах ушкодження серцево-судинної системи за експериментального ожиріння та напрямки впливу метаболічних коректорів на обмін H_2S , логічно підводить до висновків дисертації. У висновках, які повністю відповідають меті і завданням дослідження, лаконічно викладено основні отримані автором закономірності, які одночасно підтверджені окремими цифровими даними. Завершують рукопис додатки до дисертаційного дослідження, які містять такі компоненти, як перелік опублікованих дисертанткою наукових праць, наводиться список наукових форумів, акти впровадження.

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

Дисертаційна робота Бобецької Олени Пилипівни за змістом та оформленням відповідає встановленим вимогам. Недоліків, які б істотно зменшували наукову новизну, теоретичне та практичне значення роботи немає.

Запитання для дискусії.

1. Чим пояснити більш виражений кардіоваскулярний протективний ефект α -ліпоєвої кислоти за умов ожиріння у порівнянні з іншими модуляторами обміну гідроген сульфідом використаними у Вашому дослідженні.
2. Які провідні механізми залучені у зменшенні вмісту гідроген сульфідом у серці та судинах тварин за умов висококалорійного ожиріння?

10. *Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності*

У дисертаційній роботі Бобецької Олени Пилипівни не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під

сумнів самостійний характер виконання здобувачкою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел. При комп'ютерній експертизі програмним засобом «Антиплагіатна інтернет-система StrikePlagiarism» електронного примірника дисертації Бобецької Олени Пилипівни та наявних за її темою публікацій академічного плагіату не виявлено. Текст дисертації є оригінальним (середня частка авторського тексту 81,06%), наявні окремі співпадіння з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на наукову літературу та загальноживаними фразами. Робота визнається самостійною і може бути допущена до захисту.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертація Бобецької Олени Пилипівни на тему: «Роль модуляторів обміну водень сульфід у механізмах ушкодження серцево-судинної системи та кардіопротекції за експериментального ожиріння», представлена на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» 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 ролі модуляторів обміну водень сульфід у механізмах ушкодження серцево-судинної системи та кардіопротекції за експериментального ожиріння. Результати дисертації, основні положення та висновки мають важливе теоретичне та практичне значення для сучасної біології та медицини, 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 зі змінами, внесеними згідно з Постановою КМ від 21 березня 2022 р. № 341, від 19 травня 2023 р. № 502 та від 03 травня 2024 р. № 507 та оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» а **Бобецька Олена Пилипівна** заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

завідувач кафедри біологічної та біоорганічної хімії

Полтавського державного медичного університету

доктор медичних наук, професор

Каріне НЕПОРАДА