

РЕЦЕНЗІЯ
на дисертаційну роботу Ольги ГУДКОВОЇ
«Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 - Біологія.

Актуальність теми. З'ясування механізмів порушення функцій клітин, спричинених інтенсифікацією процесів оксидативного пошкодження біомолекул (в наслідок вільнорадикального окислення, неезиматичного глікозилювання, карбонілювання тощо) є важливою біологічною та медичною проблемою, до якої прикута увага багатьох дослідників. Розвиток оксидативного та карбонільного стресу, а також пов'язаного з ними хронічного запалення, вважаються ключовими молекулярно-патолофізіологічними процесами в етіології та/або прогресуванні таких поширених захворювань людини, як нейродегенеративні, серцево-судинні, легеневі, ниркові, онкологічні та цукровий діабет 1 та 2 типу.

Серед великої кількості метаболічних шляхів, в яких генеруються активні форми кисню та реактивні карбонільні сполуки, особливе важливе значення мають реакції за участю амінооксидаз (АОаз), які каталізують окисне дезамінування біогенних амінів та поліамінів з утворенням цитотоксичних сполук: пероксид водню, відповідний до субстрату альдегід та амоній. Однак, наявні на сьогодні наукові факти не дозволяють чітко встановити і узагальнити роль ензимів АОаз у прогресуванні захворювань нирки та легені, які асоційовані з посиленням утворення активних форм кисню, окисними модифікаціями протеїнів та запаленням. У сучасній науковій літературі також недостатньо висвітлені питання диференційованого впливу на різні ланки клітинних процесів селективних інгібіторів АОаз як потенційних фармакологічних засобів терапії різних поширених захворювань людини.

Дисертаційна робота відповідає пріоритетному напрямку розвитку науки в галузі біохімії тварин і виконувалась згідно плану науково-дослідних робіт відділу регуляції обміну речовин Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Дисертантка особисто проводила всі експериментальні дослідження, статистичну обробку результатів, підбір та опрацювання літератури. Планування роботи та аналіз результатів досліджень проводились спільно з науковим керівником.

Обґрунтованість наукових положень дисертації, їх достовірність та новизна. Дисертаційна робота присвячена з'ясуванню ролі амінооксидаз (FAD-вмісної поліамінооксидази (PAO) та Cu-вмісних ензимів: діамінооксидази (DAO), розчинної і мембранозв'язаної форм семікарбазидчутливої амінооксидази (SSAO) та позаклітинної лізілоксидази – LOX) як джерела активних форм кисню та реактивних карбонільних сполук у розвитку патологічних станів нирки та легені.

Значний за обсягом експериментальний матеріал викладено в шести підрозділах власних досліджень, у яких послідовно обґрунтовується основне положення роботи, а саме: за експериментальних патологій нирки та легені активування різних АОаз в залежності від органу та проявів захворювання чітко корелює з розвитком оксидативно-карбонільного і нітрозативного стресу та прозапального станом в тканинах.

Оригінальність обраного в дисертаційній роботі підходу полягає у застосуванні семікарбазиду як інгібітора семікарбазид-чутливих Cu-AОаз, що дало можливість оцінити роль цих ензимів у розвитку структурно-функціональних, молекулярно-біохімічних та клітинних порушень за досліджуваних патологічних станів. Хоча потенційна токсичність та побічні ефекти семікарбазиду на сьогодні достатньо добре описані у літературі, проте механізм дії цієї сполуки, фармакодинаміка та безпечні терапевтичні дози дотепер вважались вивченими недостатньо. Тому значною перевагою роботи є те, що у модельній системі *in vitro* спочатку були вивчені шляхи метаболічного перетворення семікарбазиду й ідентифіковані продукти деградації даної сполуки, серед яких виявились й такі токсичні, як формальдегід, монооксид азоту та аміак. Було доведено, що причина токсичної дії семікарбазиду визначається генеруванням зазначених продуктів при його розкладанні під дією CYP450 мікросомальної фракції клітин печінки, а також встановлено ефективний, з точки зору інгібувальної дії на АОази, і в той же час безпечний діапазон концентрації цієї сполуки для подальшого її застосування в експериментах *in vivo*. Цілком вдалим є також і вибір для дослідження 4 тваринних моделей гострих та хронічних захворювань нирки та легені: гліцерол-індукованого рабдоміолізу, стрептозотоцинового (STZ) цукрового діабету 1 типу, овальбумін(OVA)-індукованої бронхіальної астми та блеоміцин С-індукованого легеневого фіброзу, які характеризуються інтенсифікацією утворення активних форм кисню (АФК), азоту (АФА), розвитком оксидативно-нітрозативного і карбонільного стресу, а також прозапальними процесами у досліджуваних тканинах. Крім того, у роботі були використані клітини карциноми легені Льюїс миші (LLC) зі стабільним нокдауном Ruk/CIN85 (сублінія B1) та контрольні клітини (Scr) для з'ясування взаємозв'язку між пригніченням експресії Ruk/CIN85 та метаболічним перепрограмуванням у клітинах LLC, а також оцінки потенційного залучення ензимів АОаз. Ключова перевага дисертаційної роботи, на мій погляд, полягає у комплексному вивченні ролі АОаз у прогресуванні захворювань нирки та легені, а в практичному аспекті – у експериментальному обґрунтованості фармакологічного застосування інгібітора Cu-AОаз, семікарбазиду, як агента здатного селективно гальмувати опосередковані семікарбазид-чутливими АОазами патологічні процеси за умов *in vitro* та *in vivo*.

Для виконання даної роботи важливим був підбір адекватних методів вирішення поставлених завдань, що дозволило отримати достовірні експериментальні результати та обґрунтувати основні положення роботи. Були використані наступні сучасні методи дослідження: клітинної та молекулярної біології, Вестерн-блот аналіз, препаративної біохімії та диференційного центрифугування, спектрофотометрія, спектрофлуорометрія, цитофлуорометрія, імуноензимний аналіз, світлова мікроскопія, гістологічні та морфометричні дослідження, статистичний аналіз. Варто підкреслити надзвичайно вдале застосування у роботі ЕПР-спектроскопії, яка дозволила проаналізувати зміни широкого спектру різноманітних речовин, які володіють парамагнітними властивостями, зокрема і продукцію вільних радикалів, стан системи цитохромів Р-450, метал-вмісних центрів протеїнів та ензимів, оцінити формування пулу тривалентного заліза тощо.

На моделі гліцерол-індукованого рабдоміолізу у щурів автором було показано, що прогресування даної патології супроводжується появою в плазмі крові вільного окисленого Fe^{3+} , а в органі-мішені нирці та головній залозі імунної системи, тимусі, істотно збільшується активність DAO, PAO та SSAO. Утворювані в реакціях дезамінування амінів та поліамінів реактивні альдегіди (РКС) і активні форми кисню можуть бути одним з патогенетичних чинників пошкодження тканини нирок.

На моделі STZ-індукованого діабету та діабету, ускладненого рабдоміолізом, показано, що важливим чинником розвитку нефротоксичності є оксидативно-нітрозативний стрес, асоційований з надмірним генеруванням NO. Виявлено позитивну кореляцію між зростанням активності SSAO в нирці експериментальних тварин за діабетичного стану та підвищеним рівнем всіх трьох класів реактивних сполук – АФК, РКС та активних форм азоту. Вперше продемонстровано, що за умов цукрового діабету, ускладненому рабдоміолізом, спостерігається нормалізація показників оксидативно-карбонільного стресу в тканинах органів-мішеней та зсуву вмісту АФА у бік зростання рівня зв'язаних (неактивних) форм, переважно за участю вільного Fe^{3+} .

На моделі овалбумін-індукованої бронхіальної астми у мурчаків встановлено, що у тварин з розвинутою патологією багаторазово зростають активності DAO та SSAO в крові, а також LOX в легеневій тканині, що супроводжує формування головних ознак патології – субепітеліальний фіброз, інфільтрування імунних клітин в легеню, що разом з надлишком прозапальних медіаторів сприяє запально-деструктивним змінам легеневої тканини, що було надійно підтверджено даними морфометричних та гістологічних досліджень. Споживання тваринами SC в розчині (0,05%) per os та у вигляді аерозолу (0,2%) на тлі розвитку бронхіальної астми нормалізувало біохімічні та морфологічні показники, що вказує на безпосереднє залучення Cu-AOаз до патогенезу бронхіальної астми.

На моделі блеомицин С-індукованого фіброзу легені у щурів показано значне збільшення активностей LOX, SSAO, DAO в легені та крові у порівнянні з інтактним контролем. У цих тварин було підтверджено наявність всіх ключових гісто-морфологічних ознак розвитку легеневого фіброзу. Використання 0,005% SC, розчиненого у питній воді, призводило до нормалізації активності всіх Cu-вмісних АОs та суттєвого зменшення ознак ремоделювання дихальних шляхів у експериментальних тварин, що підтверджує роль досліджуваних ензимів у розвитку легеневого фіброзу.

На моделі високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс миші продемонстровано, що зниження агресивності фенотипу клітин за рахунок пригнічення експресії адаптерного протеїну Ruk/CIN85 позитивно корелювало з напрямком змін рівня активності досліджуваних АОаз (SSAO, DAO, PAO, LOX), які контролюють ступінь жорсткості позаклітинного матриксу, здатність пухлинних клітин уникати імунної відповіді, підтримання внутрішньоклітинного рівня біогенних амінів та поліамінів.

Науково-практична значимість роботи та конкретні шляхи використання результатів дослідження. Теоретичні положення, сформульовані при аналізі отриманих результатів, поглиблюють уявлення щодо участі АОаз у посиленому ендогенному утворенні реактивних карбонільних сполук, активних форм кисню та

азоту, що можуть залучатись до розвитку патологічних станів нирки за рабдоміолізу і цукрового діабету та легені за atopічної бронхіальної астми і легеневого фіброзу, а також до формування агресивних фенотипів ракових клітин. Ці положення можуть стати науковим обґрунтуванням можливості практичного застосування семікарбазиду як ефективного молекулярного інструменту для оцінки участі АОаз у різних біохімічних процесах в клітинах. З огляду на те, що кінцевою метою багатьох робіт, присвячених проблемі оксидативного стресу, є пошук шляхів гальмування прооксидантних та прозапальних процесів в організмі за різних патологій, результати проведених досліджень можуть бути використані як експериментальне підґрунтя для розробки нових сполук з високою селективною інгібіторною активністю по відношенню до АОаз, що дозволило б підвищити ефективність комплексного лікування численних захворювань.

Структура роботи. Дисертаційна робота викладена на 195 сторінках, включає традиційно необхідні розділи: анотація українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, розділ результатів власних досліджень та їх обговорення, заключний розділ аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновки та список використаних джерел (всього 196 посилання) та перелік наукових праць, опублікованих за темою дисертації. Огляд літератури є цікавим, добре структурованим, проілюстрований схемами, логічно вибудованим та інформативним. Дисертаційна робота в цілому написана грамотною мовою, на належному науковому рівні, із залученням для обговорення отриманих результатів значної кількості оригінальних статей вітчизняних та зарубіжних авторів. Критично проаналізовані публікації провідних наукових лабораторій, які працюють по даній проблемі. Текст супроводжується 35 рисунками і 17 таблицями.

Матеріал, викладений в дисертаційній роботі, в цілому відповідає меті та задачам досліджень. За змістом дисертація має завершений характер як самостійна науково-дослідна розробка. Сукупність експериментальних досліджень і теоретичних положень роботи є суттєвим внеском у вирішення важливої наукової проблеми – встановлення ролі амінооксидаз як потенційних чинників розвитку оксидативно-карбонільного та нітрозативного стресу у генезисі захворювань нирки та легені.

Характеризуючи роботу в цілому необхідно відмітити, що дисертант добре володіє теоретичним та фактичним матеріалом, експерименти сплановано вдало та підібрано адекватні сучасні методи дослідження поставлених задач. Статистичний аналіз результатів здійснювали згідно відповідних методів з використанням комп'ютерних програм. Висновки, зроблені автором, в цілому є коректними і логічно узагальнюють проведені експериментальні дослідження. Достовірність висновків підтверджується даними статистичної обробки, наведеними в таблицях та рисунках і сумнівів не викликає.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях.

Результати експериментальних досліджень, отримані в процесі виконання дисертаційної роботи, повною мірою висвітлені у 11 публікаціях, з них 9 – статті у фахових виданнях, що відповідають вимогам Постанови №44 Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора

філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» та в 1 патенті на корисну модель. Основні результати експериментальних досліджень і теоретичні положення достатньо повно обговорені на вітчизняних та міжнародних конференціях, список включає 18 тез доповідей.

Зауваження та дискусійні питання.

В цілому, аналіз матеріалу проведених досліджень дозволяє зробити висновок про достатньо повне теоретичне та експериментальне обґрунтування положень, висунутих в роботі. Разом з тим до дисертаційної роботи виникли деякі зауваження і запитання, а також міркування та побажання в рамках наукової дискусії.

1. Експериментальна модель цукрового діабету 1 типу була обрана у роботі перш за все як модель ниркової дисфункції. Проте, нирки далеко не є єдиним органом мішенню за цукрового діабету. Вторинними ускладнення цукрового діабету вважаються судинна паталогія (ангіопатія), полінейропатія, гепатопатія, остеопороз тощо. Діабет це той стан, за якого цілком можна було досліджувати і легеневу дисфункцію. У будь-якому разі діабет дійсно може супроводжуватись розвитком ниркової дисфункції, так званою діабетичною нефропатією. Однак, це не означає, що діабетичний стан автоматично вказує на наявність діабетичної нефропатії у досліджуваних тварин. Тому патологію нирки за діабету необхідно експериментально доводити. У роботі ж не наведено достатньо даних щодо біохімічних маркерів, що характеризують розвиток діабетичної нефропатії, а також відсутнє гістологічне підтвердження структурних змін нирки. Вміст карбоксиметиллізину вважається маркером доклінічного розвитку діабетичної нефропатії, тобто скоріше предиктором ризику розвитку даного діабетичного ускладнення.

2. Одним з ключових положень роботи полягає у експериментальному підтвердженні гіпотези про те, що активування різних форм амінооксидаз може бути важливим чинником розвитку карбонільного та оксидативно-нітрозативного стресу, і таким чином вважатись істотним патогенетичним механізмом у розвитку різних захворювань. Власне філософія дослідження і обговорення отриманих результатів вибудовані навколо відповіді на це ключове питання, а також, на мою думку, власне саме цим і обумовлено вибір досить широкого кола патологічних станів різної етіології, розвиток яких (всіх без винятку) супроводжується оксидативним стресом та запально-деструктивними змінами у тканинах. Що має працювати на підтвердження цієї гіпотези? По-перше, це систематичне простеження чіткої позитивної кореляції між активністю ключових АОаз та інтенсивністю формування реактивних карбонільних сполук і вільнорадикальних форм кисню на всіх обраних моделях. По-друге, можливість чіткої демонстрації вираженої антиоксидантної ефективності селективних інгібіторів АО (використання фармакологічного підходу), які самі при цьому не повинні проявляти властивості скевенджерів вільних радикалів. Однак, таку комплексність при проведенні запланованих досліджень нажалі далеко не повністю вдалось реалізувати на практиці, не дивлячись на значний арсенал використаних методів, методичних підходів та кількість експериментальних моделей. Так, активності одних АОаз були досліджені на одних моделях, але не вивчалися на інших (це подекуди стосується і тканин – у одних

випадках додатково досліджується печінка, в інших тимоцити тощо). Якщо за моделювання легеневої патології вивчалися всі три Cu-AОazi (DAO, розчинна і мембранозв'язана форми SSAO та LOX), а також FAD-вмісна PAO, то на моделі цукрового діабету та його ускладнення рабдоміолізом вивчалась тільки активність SSAO. На моделі ж гліцерин-індукованого рабдоміолізу досліджували три ензими – DAO, SSAO та PAO, але по факту в динаміці розвитку рабдоміолізу, особливо на найбільш критичний шостий день, у тканині нирки послідовно були простежені зміни по-суті лише двох АОаз – SSAO та PAO. За OVA-індукованої бронхіальної астми у легеневій тканині визначали лише активність LOX, а у плазмі крові активності SSAO та DAO. Більше того, отримані результати вказують на те, що не завжди виявляється чітка кореляція між активністю досліджуваних ензимів та інтенсивністю утворення АФК, АФА і РКС, а також станом системи антиоксидантного захисту. Крім того, фармакологічне інгібування АОаз не застосовували на всіх досліджуваних моделях, зокрема за рабдоміолізу і цукрового діабету. Використаний інгібітор АО, семікарбазид, селективно гальмує активність одних АОаз і не впливає на інші, тому використання його для аналізу залучення всього спектру амінооксидаз до механізму розвитку оксидативно-нітрозативного стресу є обмеженим. З іншого боку, у разі необхідності оцінки саме специфічного внеску SSAO, це зробити також проблематично, тому що семікарбазид паралельно здатен інгібувати й інші Cu-AОazi (проявляє селективність до групи ензимів). Недоліком також є те, що у роботі в модельній системі *in vitro* не було з'ясовано, чи можлива реалізація ефектів семікарбазиду через його пряму антиоксидантну дію, зокрема як потенційного скевенджера вільних радикалів. Все зазначене не зовсім сприяє формуванню повної картини змін, щоб можна було зробити коректні висновки стосовно ключового питання – встановлення закономірностей змін активностей АОаз у їх взаємозв'язку з розвитком оксидативно-карбонільного, нітрозативного стресу та генезису захворювань нирки та легені в цілому.

3. У роботі в цілому експериментально підтверджено наявність значних порушень у амінооксидазній системі за досліджуваних патологічних станів, які відбуваються на тлі прооксидантних процесів, однак виникають питання стосовно причинно-наслідкових зв'язків. Стресорні умови можуть активувати системи біогенних амінів та поліамінів, інтенсифікуючи їх обмін та вторинно активуючи й власне самі АОazi. У цьому відношенні, у роботі зовсім не враховується вплив активності тих чи інших АОаз на метаболізм та рівень біогенних амінів, які самі по собі здатні чинити виражений вплив на різноманітні клітинні процеси, включно з розвитком оксидативного стресу та регулюванням клітинного виживання і загибелі.

4. Важко погодитись з твердженням про те, що отримані у роботі дані експериментально доводять можливість використання показника активності SSAO як маркера діабетичної нефропатії. Для того, щоб зробити такий висновок потрібно було, по-перше, встановити наскільки специфічні за цукрового діабету зміни активності SSAO саме у нирках, і чи цей ензим не активується в інших тканинах, по-друге, необхідно було провести кореляційний аналіз залежності змін маркерів нефропатії від активності ензиму і, по-третє, важливо було показати ефективність селективного інгібування SSAO у корекції діабетичної нефропатії. Семікарбазид як раз саме на тваринній моделі цукрового діабету і не був використаний.

5. Достатньо дискусійним, на мій погляд, є те, яким чином автор на основі отриманих результатів дослідження намагається інтерпретувати зв'язок амінооксидаз з системою монооксиду азоту. Безперечно, амоній є одним з токсичних продуктів в реакціях, що каталізуються АОазами. Так само в організмі існує ряд шляхів його детоксикації. Автор же висуває гіпотезу про можливість використання амонію для синтезу аргініну, який міг би стати джерелом утворення NO. По-суті одна токсична сполука перетворюватиметься на іншу токсичну сполуку. Тут постає два ключових питання – який внесок саме АОаз в утворення амонію і яка імовірність його безпосереднього залучення в утворення монооксиду азоту. Продукування амонію не є унікальним тільки для амінооксидазних реакцій. Існують потужні додаткові джерела його утворення, зокрема катаболізм амінокислот та азотистих основ. У цьому плані варто було оцінити принаймні внесок АОаз у загальний пул утворюваного в організмі амонію, однак його рівень у тканинах або біологічних рідинах не вимірювався. Твердження, зокрема, що саме амоній амінооксидазних реакцій чи будь-яких інших включається в молекулу аргініну, субстрату для синтезу NO, потребує експериментального підтвердження. Більше того, навіть гіпотетичне зростання рівня аргініну, вміст якого також не досліджувався, не обов'язково повинно призводити до посиленого утворення NO, адже ця амінокислота може безпосередньо піддаватись дії аргінази в орнітиновому циклі з утворенням сечовини, і тому варто було більш ґрунтовно оцінити зміни в системі NO і визначити, зокрема експресію генів та рівень протеїнів ключових форм NOсинтази, їх активність, а також тканинні рівні 3-нітротирозину, а не обмежуватись визначенням останнього лише у плазмі крові.

6. Наступне питання стосується інтерпретації результатів, отриманих на моделі ускладнення цукрового діабету рабдоміолізом. У цьому розділі, автором наголошується на тому, що рабдоміоліз корегує ниркові порушення за цукрового діабету і має захисну дію, адже за цього стану спостерігалась нормалізація активності амінооксидаз та зниження рівня нітрованих протеїнів плазми крові. Однак, при цьому у роботі не наведені дані стосовно характеру патологічних змін у самих нирках за діабету, ускладненому рабдоміолізом. “Парадоксальне” зниження активності насправді може бути пов'язано з винятковою тяжкістю перебігу діабету з одночасним рабдоміолізом, і можливо поліорганною недостатністю, з порушенням біосинтетичних процесів, зокрема синтезу протеїнів. Тому, варто було додатково визначити рівень протеїну SSAO. З іншого боку ще до моделювання рабдоміолізу цукровий діабет вже міг призводити до виснаження резерву системи біогенних амінів, так що подальше внутрішньом'язеве введення гліцерину і рабдоміоліз остаточно вичерпував рівень субстратів АОаз і, відповідно активність ензимів АОаз знижувалась. Не виключено також, що оксидативний стрес, посилений рабдоміолізом, інактивує АОази. Однак, кожне з цих тверджень, звісно, потребує експериментального підтвердження.

7. У тварин з експериментальною OVA-індукованою бронхіальною астмою встановлено істотну невідповідність рівня активності DAO (гістаміназа) в рідині БАЛ, який падає в 4 рази порівняно з контролем, та рівнем субстрату цього ензиму, гістаміну, який за даними літератури суттєво зростає за цієї патології. Автор припускає, що гістаміназа не активується у відповідь на ендогенне вивільнення

гістаміну, імовірно, внаслідок порушення її експресії. Тому цілком логічним було б визначення рівня експресії гену гістамінази та тканинного рівня протеїну цього ензиму за бронхіальної астми. Крім того, можна було дослідити власне і сам рівень гістаміну у БАЛ за умов даного експерименту, а не тільки покладатись на результати, отримані іншими авторами дослідниками. На цій же моделі наголошується на інтенсифікації легеневого фіброзу, але при цьому ступінь розчинності колагену вивчали у шкірі, а не в легеневій тканині.

8. Доречно і цікаво було б визначити, крім активності SSAO за бронхіальної астми і легеневого фіброзу, також і рівень протеїну цього ензиму в тканині легені, з огляду на те, що SSAO виконує функції протеїну судинної адгезії лейкоцитів (VAP-1) та його вміст може корелювати з інфільтрацією клітин запалення в тканину органу-мішені.

9. На моделі блеоміцин С-індукованого легеневого фіброзу відсутність токсичності дії семікарбазиду, на думку автора, підтверджується тим, що не було виявлено істотних змін вмісту CYP450, однак при цьому показано, що антибіотик блеоміцин сам по собі здатен значно активувати систему цитохрому CYP450 печінки. У зв'язку з цим фактом, чи не може коригувальний вплив семікарбазиду на систему детоксикації ксенобіотиків, який був чітко встановлений у роботі, потенціювати токсичну дію блеоміцину С на легеневу тканину? З іншого боку, навпаки, на тлі активування цитохромів печінки під дією блеоміцину С чи неможливе посилення біотрансформації також і самого семікарбазиду, що призводитиме до зниження його ефективної концентрації та може спотворити картину коригувальної дії семікарбазиду на тлі антибіотику?

10. Чому при визначенні стану активності антиоксидантної системи за патологічних станів досліджували активність лише СОД та каталази, а система глутатіону (крім GPx на моделі легеневого фіброзу) та рівень неензиматичних антиоксидантів повністю залишились поза увагою? Крім цього, потрібно було дослідити більш широке коло маркерів запалення на моделях астми та легеневого фіброзу. В цілому, варто констатувати, що автор приділив, як на мою думку, дещо недостатню увагу дослідженню прозапального компоненту у розвитку всіх обраних експериментальних патологічних станів.

11. Не на всіх моделях досліджувались маркери карбонільного стресу (лише на моделях рабдоміолізу та цукрового діабету). Чудовим доповненням щодо вивчення інтенсивності карбонільного стресу могло б бути визначення рівня карбонілювання протеїнів з використанням Вестерн-блот аналізу.

12. Висловленні зауваження в цілому не применшують науково-практичне значення отриманих результатів та роботи в цілому, а можуть слугувати підґрунтям для аналізу щодо планування подальших досліджень у цьому напрямку. Обговорення поставлених питань не торкається основних положень роботи, але дозволяє значно покращити розуміння молекулярно-клітинних та біохімічних механізмів участі АОаз як важливих чинників розвитку оксидативно-карбонільного та нітрозативного стресу за паталогії легені та нирки різної етіології.

Висновок.

Вважаю, що дисертаційна робота Ольги ГУДКОВОЇ «Залучення амінооксидаз до патологічних станів нирки та легені» за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки та розв'язанням проблем і практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., №44, а здобувачка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

**Старший науковий співробітник
відділу біохімії вітамінів і коензимів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України,
кандидат біологічних наук**

Ігор ШИМАНСЬКИЙ