

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертацію Ольги ГУДКОВОЇ

«ЗАЛУЧЕННЯ АМІНООКСИДАЗ ДО РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ НИРКИ ТА ЛЕГЕНІ»

представлену на здобуття наукового ступеня

доктора філософії

у галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 - Біологія

Дисертаційна робота Ольги ГУДКОВОЇ присвячена вивченню ролі амінооксидаз у розвитку захворювань нирок та легень. Численні патологічні процеси, зокрема діабетичні стани, онкозахворювання, травматичні ушкодження м'язової тканини тощо супроводжуються суттєвим зростанням в організмі рівня вільних низькомолекулярних альдегідів, оксидативним та нітрозативним стресом. За патологічних станів різного генезу в тканинах суттєво підвищується вміст біогенних амінів - субстратів амінооксидаз. Внаслідок перебігу реакцій окисного дезамінування утворюються альдегіди, пероксид водню та іони амонію - високореактивні сполуки, які залежно від концентрації можуть виконувати як регуляторну роль, так і виступати індукторами патологічних станів. Отже, зміни активностей амінооксидаз можуть виступати маркерами ступеню перебігу захворювання. Об'єктами дослідження дисертантки стали чотири представники амінооксидаз, а саме семікарбазидчутлива амінооксидаза, діамінооксидаза, поліамінооксидаза та лізілоксидаза.

Порушення балансу між генеруванням та утилізацією пероксиду водню та низькомолекулярних альдегідів як продуктів амінооксидаз призводить до розвитку оксидативного та карбонільного стресу, який наразі розглядається як неспецифічний індуктор ниркової патології. Залучення аміаку у синтез аргініну в нирковій тканині робить його вірогідним попередником оксиду азоту, відомого як своїми регуляторними функціями, так і цитотоксичністю за гіперпродукції в

умовах патології. Таким чином, амінооксидази можуть продукувати високі концентрації активних форм азоту, що є причиною нітрозативного стресу.

Отже, мета дисертаційної роботи Ольги ГУДКОВОЇ, а саме: з'ясуванні ролі амінооксидаз в розвитку патології нирок та легенів, а також в дослідженні ефекту інгібітору Cu- та хінон-залежних амінооксидаз, семікарбазиду, на прояви захворювань та залежності цих процесів від стану нітрозативної системи, є сучасною і актуальною.

Дисертація загальним обсягом 195 сторінок складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», шести розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення отриманих результатів та висновків. Список використаних джерел містить 196 найменувань, з яких 18 кирилицею. Текст супроводжується 35 рисунками і 17 таблицями.

Ольгою ГУДКОВОЮ в дослідках на моделях рабдоміолізу та цукрового діабету I типу, які викликають гостру ниркову недостатність та хронічну хворобу нирок відповідно була підтверджена нефротоксичність досліджуваних амінооксидаз. З'ясована причетність амінооксидаз як чинника оксидативного, карбонільного та нітрозативного стресів до деструкції ниркової тканини за цих патологічних станів.

В результаті експериментальної роботи доведено, що семікарбазид в організмі метаболізується цитохромною системою печінки з утворенням формальдегіду, іонів амонію та NO, що в залежності від концентрації даної сполуки, може викликати певні токсичні ефекти. Монооксигеназна система печінки нечутлива до досліджуваної речовини в концентрації нижче 1,5 мМ.

Дисертанткою на моделях індукованої хронічної бронхіальної астми у мурчаків та індукованого блеоміцином С легеневого фіброзу у щурів, із застосуванням семікарбазиду в нетоксичній дозі продемонстрована причетність досліджуваних амінооксидаз до патологічних змін в легеневій тканині. Зокрема визначені рівні активностей мідь-вмісних амінооксидаз, показники оксидативного

та нітрозативного стресу, а також проведені гістологічні та морфометрічні дослідження зразків легеневої тканини піддослідних тварин. Продемонстрована міграція у легеневу тканину лейкоцитів, зміни вмісту медіатору запалення гістаміну, субепітеліальний фіброз. Важливо, що рівні активностей вибраних аміноксидаз позитивно корелюють із ступенем оксидативного та карбонільного стресів. Застосування семікарбазиду попереджало надлишкову активацію досліджуваних аміноксидаз в легені та крові за умов розвитку легеневої патології.

Поряд з цим, дисертанткою показаний взаємозв'язок функціонування вибраних аміноксидаз та нітрозативної системи. Прикметно, що багаторазове зростання активності семікарбазидчутливої аміноксидази в нирках щурів за умов розвитку діабету супроводжувалось підвищенням рівня показників нітрозативного стресу в крові та печінці, водночас зв'язування надмірних кількостей NO за цих умов призводило до нормалізації рівня активності цього ензиму та низки інших біохімічних показників.

Під час виконання дисертаційної роботи було використано також модель високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс миші з різним ступенем агресивності, яка залежала від зміни рівня експресії адаптерного протеїну Ruk/CIN85. О. ГУДКОВА продемонструвала, що в процесах асоційованих з метаболічним репрограмуванням ракових клітин приймають участь й досліджувані аміноксидази. Зокрема мала місце позитивна кореляція між рівнем експресії адаптерного протеїну Ruk/CIN85 в клітинах карциноми легені Льюїс та рівнем активностей досліджуваних ензимів, залучених до реалізації ефекту Варбурга, що вказує на їх безпосередню причетність до онкологічного процесу та контролю стовбуровості.

Отримані дисертанткою результати свідчать про те, що семікарбазид як інгібітор мідь та хінонозалежних аміноксидаз при застосуванні у концентраціях 0,005-0,05 % ефективно знижує прояви патології фіброзу легені і є безпечним для організму тварин. Семікарбазид у зазначеній концентрації є перспективним для

подальших медико-біологічних досліджень як компонент у розробці препаратів, спрямованих на послаблення наслідків патології, що супроводжується гіперактивацією відповідних аміноксидаз.

Отже, в процесі виконання дисертаційної роботи Ольгою ГУДКОВОЮ Олексіївною надійно продемонстровано, що всі досліджені аміноксидази причетні до розвитку патологічних станів нирки та легені, а рівні їх активностей відповідають ступеню перебігу захворювання. Ці показники є сенсорами змін у функціонуванні нітрозативної системи, а також зазнають впливу *in vivo* специфічного інгібітора, семікарбазиду, що може бути використано у розробці терапевтичних підходів у комплексному лікуванні системних захворювань. Результати проведеної роботи розширюють існуючі уявлення про біохімічні механізми розвитку патологічних процесів різного генезу та пряму причетність аміноксидаз до ураження тканини нирки та легені.

Представлена дисертація являє собою класичну біохімічну роботу з виходом на практику. Її цінність полягає у переконливих експериментальних доказах доцільності використання семікарбазиду для запобігання наслідків надмірної активації аміноксидаз і пригнічення карбонільного, оксидативного та нітрозативного стресів за патологічних умов. Отже, **наукове і практичне значення зробленої роботи безсумнівне.**

Наведені в кінці дисертації висновки впливають з завдань і є правомірними. Рисунки демонстративні, наведена коректна статистична обробка експериментальних результатів. Використано численні сучасні методи дослідження, які повністю відповідають меті та завданням роботи.

За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових робіт, зокрема, 9 статей 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», 1 патент на корисну модель, 18 тез доповідей на вітчизняних та

міжнародних конференцій. Зазначені публікації здобувачки в повному обсязі, на високому науковому рівні висвітлюють результати експериментальних досліджень, що увійшли до рукопису дисертації.

Позитивною рисою роботи є використання комплексних експериментальних підходів для дослідження участі амінооксидаз у розвитку патологічних станів в нирках та легенях.

Втім, при аналізі рукопису виник ряд зауважень і запитань.

Зауваження.

1. Не можна говорити про регуляцію біохімічних показників за діабету в умовах рабдоміолізу.

2. Молекулярні механізми, які лежать в основі бронхіальної астми та фіброзу легені важко вивчати з використанням клітин карциноми Льюїса із різним ступенем експресії Ruk/CIN 85.

3. У зв'язку з обговоренням ролі посилення синтезу аргініну за рахунок зростання рівня аміаку, варто було б провести визначення аргіназної активності. Ця активність є маркером багатьох патологічних процесів.

4. Робота перевантажена аббревіатурами. Їх розшифрування слід давати при першому використанні і в подальшому його притримуватись. Численні аббревіатури містяться в меті, задачах та висновках.

5. Україномовні та англійськомовні скорочення використано поряд.

6. Результати морфометричних досліджень на рис. 3.4.2. краще навести в кольорі.

7. Не відображено значення аміаку в синтезі нітросполук за участі АФК.

8. В тексті наявні описки і невдалі вирази.

Запитання.

1. Яку патологічну ситуацію імітує поєднання моделі рабдоміолізу і діабету І типу?

2. Чому семікарбазид у достатньо високій концентрації (1,5 мМ) не підлягає дії цитохромної системи?

3. Чому Ви відокремлюєте біогенні аміни від поліамінів?

4. Чому в таблицях 3.1.1. та 3.1.3. наявні порожні комірки (не визначено відповідні активності ензимів)?

5. Чим Ви пояснюєте невідповідність між змінами активності антиоксидантних ензимів за рабдоміолізу в різних тканинах?

6. Чи розглядає Авторка роль аміаку як регуляторної молекули?

Висновок.

Наведені зауваження не знижують науково-практичну цінність проведеного дослідження. Аналізуючи роботу в цілому можна стверджувати, що вона відповідає галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 - Біологія та 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 12.01.2022 року №44. За актуальністю досліджуваної теми, науковою новизною, теоретичною і практичною цінністю, об'ємом експериментального матеріалу, самостійного внеску дослідника і зроблених висновків дисертація може бути представлена до офіційного захисту.

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник,
провідний науковий співробітник
відділу біохімії м'язів
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Юрій ДАНИЛОВИЧ