

ВІДГУК

офіційного опонента Вастьянова Руслана Сергійовича, доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В.Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, на дисертаційну роботу аспіранта очної (вечірньої) форми навчання кафедри патофізіології Гутніка Олександра Михайловича на тему «Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді», подану в разову спеціалізовану вчену раду, створену згідно з наказом ректора Полтавського державного медичного університету №139 від 13.03.2025 року на підставі рішення Вченої ради Полтавського державного медичного університету від 12 березня 2025 року (протокол №6) з правом прийняття до розгляду та проведення захисту дисертації за спеціальністю 222 «Медицина» галузі знань 22 «Охорона здоров'я»

1. Актуальність теми дисертаційного дослідження. Вивчення механізмів, що лежать в основі розвитку хронічної хвороби нирок (ХХН), набуває особливої ваги у світлі зростаючої частоти метаболічних порушень та запальних процесів, що супроводжуються системною запальною відповіддю. Одним із ключових патогенетичних факторів ХХН є хронічне низькоінтенсивне запалення, яке супроводжується активацією вродженого імунітету, порушенням редокс-гомеостазу та виникненням оксидативного і нітрозативного стресу. Ці зміни сприяють прогресуючій втраті ниркової функції.

Сучасна експериментальна і клінічна практика вказує на важливість ендогенних біологічних ритмів для нормального функціонування ниркової тканини. Відомо, що добова ритміка забезпечується системою циркадіанних осциляторів, які координують активність генів-мішеней у центральній і периферичних структурах, у тому числі в нирках. Порушення роботи цього внутрішнього годинника, зокрема при зсуві світлового режиму, нічному способі життя, харчових зловживаннях або експозиції до певних харчових адитивів, може призводити до дезінтеграції регуляторних механізмів і розвитку так званого десинхронозу – патологічного стану, пов'язаного з порушенням координації ритмічних процесів у системах органів.

Десинхронізація біоритмів у поєднанні з індукованою запальною відповіддю (наприклад, при введенні ліпополісахариду) значно поглиблює ушкодження нефронів через порушення клітинної сигналізації, активацію прозапальних транскрипційних факторів (зокрема NF- κ B), зміну активності NOS-ферментів та збільшення генерації вільних радикалів.

У цьому контексті науковий інтерес викликає можливість фармакологічної корекції зазначених порушень за допомогою засобів, здатних впливати на біоритми або антиоксидантну систему, зокрема екзогенного мелатоніну й біофлавоноїдів. Низка досліджень свідчить про

здатність кверцетину та мелатоніну регулювати експресію генів циркадіанного годинника, активність редокс-чутливих сигнальних каскадів та функцію ендотелію.

Незважаючи на це, взаємозв'язок між десинхронозом, системною запальною відповіддю і метаболічними розладами в нирках досі недостатньо охарактеризований. Особливо актуальним є з'ясування ролі мелатоніну, глутамату натрію та кверцетину як модифікаторів циркадіанної регуляції в умовах запалення, а також оцінка їх потенціалу в профілактиці або корекції нефропатій.

Таким чином, тематика дисертації Олександра Михайловича Гутніка є надзвичайно актуальною, оскільки поєднує в собі сучасне бачення патогенезу ХХН, роль системної запальної відповіді та порушень біоритмів, що має як фундаментальне, так і клінічне значення.

2. Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми Полтавського державного медичного університету «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» (№ держреєстрації 0119U103898). Здобувач є співвиконавицем НДР. Тема дисертації відповідає пріоритетним тематичним напрямам наукових досліджень і науково-технічних розробок з урахуванням потреб періоду воєнного стану та відновлення України від наслідків війни, згідно з Постановою Кабінету Міністрів України від 9 травня 2023 р. № 463 (етіологія, патогенез, лікування, профілактика неінфекційних хвороб; етіологія, патогенез, лікування, профілактика інфекційних хвороб).

3. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації та їх вірогідність. Дисертаційна робота базується на ретельно спланованому експериментальному дослідженні з використанням лабораторних щурів-самців, що є загальноновизнаною моделлю для вивчення патофізіологічних процесів, релевантних до умов людського організму. Відповідно до сформульованої мети та завдань, автором чітко окреслено структуру експерименту, сформовано контрольні й дослідні групи та застосовано сучасні, валідовані методики для аналізу функціонального стану нирок, маркерів запалення, оксидативного стресу і ритмозалежної регуляції. Усі етапи дослідження здійснені з дотриманням норм біоетичної експертизи, що підтверджено позитивним рішенням комісії з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету (протокол № 234 від 23 січня 2025 р.).

Дисертант застосовує комплексний, багаторівневий підхід до реалізації експериментального дослідження, що охоплює кілька ключових методологічних напрямів. Центральним елементом моделі є індукція системної запальної відповіді шляхом введення ліпополісахариду та

створення умов гострого десинхронозу шляхом зміни світлового режиму. Така модель дозволяє вивчити взаємозв'язки між циркадіанною дизрегуляцією, системним запаленням та розвитком функціонально-метаболических розладів у нирках.

У дисертаційній роботі використано широкий арсенал сучасних біохімічних методик, що дозволило комплексно дослідити молекулярні механізми порушень, зумовлених гострим десинхронозом у поєднанні з системною запальною відповіддю. Зокрема, у дослідженні проаналізовано стан оксидативно-нітрозативного балансу за показниками інтенсивності утворення супероксидного аніон-радикала різними джерелами (мітохондріями, мікросомами та лейкоцитами), активності ізоформ NO-синтази, вмісту пероксинітриту та S-нітрозотіолів у гомогенаті нирок, концентрації в ньому вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, а також показників білкової карбонільної модифікації.

Функціональний стан нирок оцінено за класичними біохімічними критеріями (вміст креатиніну, натрію в сечі та плазмі, розрахунок клубочкової фільтрації, проксимальної та дистальної реабсорбції натрію). Значну увагу приділено дослідженню впливу фармакологічних модифікаторів циркадіанного осцилятора – мелатоніну, кверцетину та глутамату натрію – на ці процеси.

Статистична обробка результатів здійснювалася із застосуванням сучасного програмного забезпечення, з дотриманням вимог до перевірки нормальності розподілу, пост-хок аналізу, багатогрупових порівнянь та контролю помилок множинності.

Таким чином, робота ґрунтується на всебічному методологічному підході, що охоплює як біохімічні, так і функціональні аспекти дослідження, забезпечуючи наукову обґрунтованість і вірогідність отриманих результатів.

4. Новизна дослідження та отриманих результатів. Дисертаційна робота О.М. Гутніка відзначається високим ступенем наукової новизни, оскільки вперше на експериментальній моделі гострого десинхронозу, поєданого з ліпополісахарид-індукованою системною запальною відповіддю, було всебічно охарактеризовано молекулярно-біохімічні порушення з боку нирок. Вперше продемонстровано, що поєднана дія зазначених патогенних чинників призводить до більш вираженої активації оксидативно-нітрозативного стресу в нирковій тканині: суттєво підвищується інтенсивність генерації супероксидного аніон-радикала, зростає загальна та індукбельна активність NO-синтази, а також концентрація пероксинітритів, S-нітрозотіолів, продуктів пероксидного окиснення ліпідів і окисно модифікованих білків. Доведено, що зазначені порушення супроводжуються дисфункцією проксимальних каналців, зниженням швидкості клубочкової фільтрації та порушенням реабсорбції натрію.

Наукова новизна полягає також у встановленні шкідливого впливу

глутамату натрію в умовах десинхронозу та системної запальної відповіді. Показано, що ця речовина підсилює прояви метаболічного дисбалансу в нирках, загострює оксидативно-нітрозативний стрес і сприяє глибшим порушенням екскреторної та іонорегуляторної функції органа.

Вперше в експерименті обґрунтовано ефективність мелатоніну та кверцетину як засобів, що демонструють виражений нефропротекторний потенціал. Встановлено, що застосування цих речовин знижує маркери гострого стресу (рівень кортизолу), гострофазової відповіді (церулоплазміну), нормалізує продукцію активних форм кисню та нітрогену, обмежує перекисне окиснення ліпідів і зменшує білкову оксидацію. Фармакологічне втручання також сприяє відновленню клубочкової фільтрації та реабсорбційної здатності нефронів, переважно на рівні проксимального сегменту.

5. Теоретичне і практичне значення одержаних результатів дослідження. *Теоретичне значення* одержаних результатів полягає у поглибленні сучасних уявлень про роль циркадіанної десинхронізації у поєднанні із системною запальною відповіддю як мультифакторного патогенетичного механізму ушкодження нирок. Робота наповнює новим змістом концепцію зв'язку між добовими біоритмами, оксидативним стресом, метаболічною та функціональною дезінтеграцією ниркової тканини. Важливе значення має також виявлення потенційних молекулярних мішеней для терапевтичного впливу, зокрема шляхів генерації активних форм кисню та активності індукцибельної ізоформи NO-синтази.

Практичне значення отриманих даних підтверджується можливістю їх використання при розробці профілактичних та лікувальних підходів до корекції ниркових порушень у контексті порушення циркадіанних ритмів та імунозапальної активації. Результати можуть бути враховані при оцінці безпечності застосування глутамату натрію у харчуванні осіб з ризиком десинхронозу або хронічного запального процесу. Обґрунтовано доцільність подальших доклінічних і клінічних досліджень застосування мелатоніну та кверцетину як перспективних засобів для підтримки функціональної цілісності нирок в умовах зміни світлового режиму або інфекційно-запального ураження.

Практична значущість підтверджена реєстрацією технології експериментального моделювання гострого десинхронозу, що свідчить про завершеність, репрезентативність і інноваційний потенціал представленого дослідження.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес на кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ

України, на кафедрі медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили МОН України.

6. Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій. Основні положення дисертаційної роботи було представлено на VIII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (Одеса, 6-8 жовтня 2021 р.), IV науково-практичній Інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 18 листопада 2021 р.), Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів (Тернопіль, 15-17 вересня 2022 р.), XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 26-28 жовтня 2022 р.), XXIII читаннях В.В. Підвисоцького (Одеса, 16-17 травня 2024 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Клінічна анатомія та патологічна фізіологія: значущість для формування клінічного мислення майбутнього лікаря» (Одеса, 4 жовтня 2024 р.).

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 11 друкованих праць, з яких – 4 статті (1 стаття у фаховому журналі України категорії Б; 2 статті у фахових журналах України категорії А, що реферуються міжнародною наукометричною базою *Scopus*; 1 стаття у іноземному періодичному виданні, що реферується міжнародною наукометричною базою *Scopus*, віднесеному до 1-го квартилю (Q1). Крім того, опубліковано 6 тез доповідей у матеріалах конгресів і конференцій, оформлено 1 технологію.

7. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності в дисертаційній роботі. У дисертаційній роботі Гутніка Олександра Михайловича не виявлено фактів академічного плагиату, фальсифікації даних чи інших порушень академічної доброчесності, які могли б викликати сумнів щодо самостійності проведеного ним наукового дослідження. Робота вирізняється оригінальністю викладу, а всі використані джерела належним чином процитовані та відображені в переліку літератури.

8. Оцінка структури, змісту та форми дисертації. Рукопис дисертації Гутніка Олександра Михайловича відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, які затверджені наказом МОН України №40 від 12.01.2017 року зі змінами, внесеними наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019. Дисертація викладена державною мовою на 174 сторінках комп'ютерного набору, містить 47 рисунків і 1 таблицю. Структура роботи включає анотацію, вступ, огляд літератури, характеристику матеріалів і методів дослідження, 2 розділи з результатами власних досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, що

налічує 293 джерел (47 кирилицею та 246 латиницею).

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» автор демонструє глибоке розуміння предмету, обґрунтовуючи власні висновки шляхом порівняння отриманих даних із результатами, наявними у вітчизняній та зарубіжній літературі. Такий підхід свідчить про високий рівень аналітичного мислення дисертанта й сформовані навички самостійної науково-дослідної роботи.

У висновках чітко й лаконічно сформульовано основні положення, які логічно випливають із поставленої мети та завдань, і які підтверджуються відповідними кількісними показниками, отриманими в ході експериментального дослідження.

Зміст додатків до дисертації є інформативним і свідчить про завершений характер дослідження. У них наведено перелік публікацій автора, що відображають основні результати роботи, зазначено участь дисертанта в наукових заходах різного рівня та подано документи, які підтверджують впровадження результатів дослідження в науково-освітній процес.

9. Недоліки дисертації щодо змісту та оформлення. Дисертаційна робота Гутніка Олександра Михайловича відповідає чинним вимогам щодо структури, змісту та оформлення наукових кваліфікаційних праць. У дослідженні не виявлено суттєвих недоліків, які б ставили під сумнів його наукову новизну, обґрунтованість висновків чи прикладну цінність отриманих результатів. Робота є логічно побудованою, цілісною за науковою концепцією і засвідчує високий рівень володіння експериментальними методами.

Водночас, у порядку конструктивних зауважень, дисертанту доцільно звернути увагу на такі аспекти:

1. Ілюстративний матеріал у розділах власних досліджень подано переважно у вигляді графіків без позначень статистичної значущості, що ускладнює оперативне візуальне порівняння між експериментальними групами. Доцільним було б доповнити графічні зображення індикаторами достовірності відмінностей.

2. Попри велику кількість біохімічних та функціональних досліджень, морфологічна характеристика змін у нирках автором майже не обговорюється. Було б доцільним доповнити результати гістологічними зображеннями з детальнішим аналізом структури нефрону.

3. У роботі розглядаються ефекти гострого десинхронозу, однак недостатньо проаналізовано динаміку змін упродовж добового циклу, що могло б глибше розкрити циркадіанну специфіку патологічних процесів.

4. У тексті трапляються окремі стилістично недосконалі формулювання, які варто було б уточнити або відредагувати задля досягнення більшої наукової чіткості.

У процесі рецензування роботи виникли питання дискусійного характеру, які можуть бути корисними для наукового обговорення під час

захисту:

1. Якими експериментальними або літературними даними обґрунтовується класифікація глутамату натрію, мелатоніну та кверцетину як модуляторів циркадіанного осцилятора?

2. Які механізми, на Вашу думку, лежать в основі синергічного впливу гострого десинхронозу та ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді на рівень кортизолу та церулоплазміну в сироватці крові?

3. Чи оцінювалася залежність вираженості зазначеного ефекту від тривалості експерименту або дозового навантаження ліпополісахаридом? Якщо так – які закономірності були встановлені?

10. Висновок щодо відповідності дисертації вимогам, які висуваються до наукового ступеня доктора філософії. Дисертаційна робота Гутніка Олександра Михайловича на тему «Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді» є самостійним завершеним науковим дослідженням, в якому наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у з'ясуванні ролі порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді.

Дисертація оформлена згідно з вимогами, затвердженими наказом МОН України від 12.01.2017 р № 40. За актуальністю теми, методичним рівнем виконаних досліджень, науковою новизною теоретичним і практичним значенням отриманих результатів, повнотою висвітлення результатів дослідження дисертація відповідає вимогам, передбаченим пунктами 6-8 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 р. № 44, які висуваються до дисертаційних робіт на здобуття ступеня доктора філософії, а її автор Гутнік Олександр Михайлович, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

Президент Українського наукового товариства патофізіологів,
завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького
Одеського національного медичного університету,
Заслужений діяч науки та техніки України,
доктор медичних наук, професор

