

ВІДГУК
офіційного опонента, кандидата біологічних наук, доцента
Чеботар Лариси Дмитрівни
на дисертаційну роботу
Гутніка Олександра Михайловича
на тему «Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і
функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій
системній запальній відповіді»,

подану до захисту до спеціалізованої вченої ради Полтавського державного
медичного університету, утвореної згідно з наказом ректора Полтавського
державного медичного університету №139 від 13.03.2025 року з правом
прийняття для розгляду та проведення разового захисту дисертації на
здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22-Охорона здоров'я зі
спеціальності 222-Медицина

1. Ступінь актуальності обраної теми.

Системна запальна відповідь є важливим патофізіологічним компонентом низки хронічних патологій, включно з ураженням нирок. Саме стійке, низькоінтенсивне запалення все частіше розглядається як незалежний предиктор прогресування хронічної хвороби нирок, що відзначається підвищенням рівнів прозапальних цитокінів, оксидативним стресом і дисбалансом в антиоксидантній системі організму. Порушення в нирках у цьому контексті часто мають складний характер і супроводжуються метаболічною дестабілізацією, гіперреактивністю імунної системи та посиленням фіброзу.

Нині особливу увагу дослідників привертає участь ендогенних циркадіанних механізмів у підтриманні функціонального гомеостазу внутрішніх органів, включно з нирками. Відомо, що внутрішній біологічний годинник організму координує активність численних фізіологічних процесів у добовому циклі. Його порушення – так званий десинхроноз – може виникати під впливом зовнішніх факторів, таких як зсув світлового режиму, зміна режиму сну, нерегулярне харчування, дія ксенобіотиків тощо. Десинхронізація може мати серйозні наслідки для метаболічної, імунної та судинної регуляції в нирковій тканині.

У зв'язку з цим актуальним є з'ясування ролі центрального та периферичних циркадіанних осциляторів у розвитку функціональних розладів нирок, особливо в умовах імунного виклику. Порушення ритмічної експресії генів, що відповідають за транспортні функції, метаболізм ксенобіотиків і регуляцію судинного тону, може сприяти прогресуванню нефропатії.

Крім того, недостатньо вивченим залишається вплив біологічно активних речовин, таких як мелатонін, кверцетин і глутамат натрію, на перебіг запальних і метаболічних процесів у нирках за умов десинхронозу та запального стресу. Враховуючи відому здатність мелатоніну та флавоноїдів впливати на експресію годинникових генів, активність редокс-чутливих сигнальних каскадів та ферментів системи оксиду азоту, дослідження в цьому напрямку є перспективним з огляду на можливу фармакологічну модифікацію порушень біоритмів і запалення.

Таким чином, тематика дисертаційної роботи Олександра Михайловича Гутніка, яка зосереджена на вивченні ролі порушень циркадіанної регуляції в розвитку ниркових дисфункцій у контексті запального процесу, має високу наукову і практичну значущість. Вона відображає сучасні тенденції медичної науки, що спрямовані на пошук нових мішеней для лікування та профілактики метаболічно-запальних ускладнень у нефрологічній практиці.

2. Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є самостійним фрагментом планової науково-дослідницької теми Полтавського державного медичного університету МОЗ України «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» (№ держреєстрації 0119U103898). Здобувач є співвиконавицем зазначеною теми.

3. Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі Олександра Михайловича Гутніка наведено нові експериментальні дані щодо характеру функціонально-метаболічних змін у нирках за умов поєднаної дії гострого десинхронозу та системної запальної відповіді, індукованої ліпополісахаридом. Вперше обґрунтовано, що сумарна дія цих чинників супроводжується більш глибокими порушеннями оксидативно-нітрозативного гомеостазу в тканинах нирок порівняно з їх ізольованим впливом. Зокрема, виявлено значне підвищення продукції супероксидного аніон-радикала, активацію індукцибельної ізоформи NO-синтази та накопичення токсичних похідних нітрогену, що супроводжується посиленням пероксидного ушкодження ліпідів і білків.

Вперше встановлено, що гострий десинхроноз, поєднаний із системною запальною відповіддю, суттєво порушує функції нирок – екскреторну та іонорегуляторну, знижуючи клубочкову фільтрацію та погіршуючи реабсорбцію натрію, що особливо виражено на рівні проксимальних каналців.

Новим є також спостереження, що глутамат натрію, за умов зазначених патофізіологічних впливів, значно поглиблює розвиток стрес-індукованої відповіді та оксидативного дисбалансу, демонструючи потенційно нефротоксичні властивості. Ці результати мають важливе значення з точки зору токсикологічної безпеки харчових добавок в умовах порушеного циркадіанного ритму.

Оригінальним внеском є також експериментальне підтвердження вираженого протекторного ефекту мелатоніну та кверцетину, які суттєво зменшують як системні прояви стресу та запалення (зниження рівнів кортизолу та церулоплазміну), так і оксидативне та нітрозативне ушкодження тканин нирок, нормалізують антиоксидантний потенціал, а також покращують функціональні параметри ниркової екскреції та реабсорбції. Отримані результати не лише розширюють уявлення про патофізіологію десинхронозу, але й підкреслюють потенціал зазначених речовин як засобів метаболічної та функціональної нефропротекції при порушенні циркадіанної організації.

4. Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Вірогідність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертаційній роботі Олександра Михайловича Гутніка, підтверджується обґрунтованим вибором науково-методологічного підходу, який повністю відповідає меті та завданням дослідження. Робота виконана на достатньому експериментальному матеріалі – 49 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220 ± 10 г, що відповідає загальноприйнятим стандартам для доклінічних біомедичних досліджень.

У дослідженні застосовано комплекс сучасних, високоінформативних і взаємодоповнювальних методів, які охоплюють біохімічні та функціональні підходи до оцінки змін у тканинах нирок. Високий рівень наукового супроводу, належна інтерпретація отриманих результатів, а також використання коректних статистичних методів аналізу забезпечують належну достовірність та об'єктивність зроблених висновків.

Згідно з протоколом № 234 від 23 січня 2025 р. засідання Комісії з етичних питань та біоетики Полтавського державного медичного університету, всі експерименти проведено відповідно до міжнародних та національних етичних вимог, включаючи положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», а також рекомендацій Європейського Союзу щодо біоетичного поводження з лабораторними тваринами.

Таким чином, високий методичний рівень дисертації, коректність вибірки, інформативність обраних методів і належне статистичне опрацювання дозволяють вважати отримані результати, наукові положення та рекомендації обґрунтованими, достовірними і такими, що мають практичну значущість.

5. Теоретичне та практичне значення роботи.

Теоретична цінність дисертаційної роботи Олександра Михайловича Гутніка полягає у поглибленні сучасних уявлень про взаємозв'язок між порушеннями циркадіанної ритміки, розвитком системної запальної відповіді та прогресуванням функціонально-метаболических порушень у нирках. Дисертантом встановлено, що комбінація гострого десинхронозу з ліпополісахарид-індукованим запаленням має синергічний ефект, який суттєво посилює оксидативно-нітрозативний стрес у нирковій тканині, зумовлює зростання індукованої діуретичної відповіді, зниження клубочкової фільтрації та порушення проксимальної реабсорбції натрію.

Важливим досягненням автора є встановлення нових патофізіологічних закономірностей формування метаболических порушень у нирках за умов циркадіанної дискоординації. Дисертантом експериментально доведено, що введення глутамату натрію, широко вживаного як харчова добавка, за наявності десинхронозу та системного запалення додатково погіршує стан ниркової тканини, посилюючи окиснювальні ураження та функціональну недостатність. Отримані дані вказують на необхідність критичної оцінки

споживання цієї речовини у популяціях з порушеним хронобіологічним профілем.

Водночас практично значущим є виявлення нефропротекторного потенціалу екзогенного мелатоніну та кверцетину, які, як встановлено, здатні обмежувати генерацію активних форм кисню й азоту, знижувати інтенсивність пероксидного окиснення біомолекул і покращувати функціональні параметри роботи нирок. Застосування цих агентів супроводжувалося зниженням вмісту маркерів стресу (кортизолу, церулоплазміну), нормалізацією діурезу, клубочкової фільтрації та канальцевої реабсорбції натрію.

Таким чином, результати роботи мають не лише патофізіологічну, але й перспективну фармакологічну спрямованість і можуть слугувати підґрунтям для подальших доклінічних і клінічних досліджень щодо розробки терапевтичних стратегій у пацієнтів із порушенням циркадіанних ритмів та хронічним запаленням. Практичне значення також підтверджене отриманням автором реєстраційної картки технології «Технологія експериментального моделювання гострого десинхронозу» (державний реєстраційний № 0624U000094), що засвідчує можливість відтворення моделі з високою відтворюваністю для дослідницьких цілей.

6. Впровадження отриманих результатів.

Одержані дисертантом результати 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.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Основні наукові результати та положення, що становлять зміст дисертаційної роботи Олександра Михайловича Гутніка, повною мірою відображено в опублікованих наукових працях. Загалом за темою дисертації опубліковано 11 наукових публікацій, зокрема 4 статті. Із них одна стаття надрукована у фаховому журналі України категорії Б, дві – у фахових виданнях категорії А, що індексуються в міжнародній наукометричній базі *Scopus*, ще одна – в закордонному періодичному виданні, що входить до бази *Scopus* і належить до першого квартилю (Q1) згідно з класифікацією *SCImago Journal and Country Rank*. Крім того, автор опублікував 6 тез доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових форумів, що свідчить про апробацію результатів дослідження у професійному середовищі. Практичну цінність проведених досліджень підтверджено також оформленням реєстраційної картки технології.

Аналіз авторського внеску в опубліковані праці свідчить про провідну роль дисертанта в плануванні, проведенні досліджень і інтерпретації

отриманих результатів, що додатково засвідчує високий рівень самостійності та наукової зрілості здобувача.

8. Оцінка структури дисертації.

Дисертаційна робота Олександра Михайловича Гутніка викладена державною мовою на 174 сторінках комп'ютерного набору і структурно відповідає встановленим вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Робота включає всі необхідні елементи: анотацію, вступ, огляд літератури, характеристику матеріалів і методів, результати власних досліджень, аналітичний розділ з обговоренням отриманих даних, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел (293 найменування, з яких 246 – латиницею) та додатки. Ілюстративний матеріал представлений 47 рисунками та 1 таблицею, що дозволяє візуалізувати отримані результати.

У вступі обґрунтовано актуальність теми, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, сформульовано наукову новизну, практичне значення та положення, що виносяться на захист. Огляд літератури логічно структурований, узагальнює сучасні уявлення про роль циркадіанних ритмів, системної запальної відповіді та транскрипційних факторів у розвитку ниркової патології, що дало змогу чітко окреслити наукову нішу дослідження.

Другий розділ містить детальний опис матеріалів і методів експериментального дослідження. Автор надає вичерпну інформацію щодо розподілу тварин, характеристик моделі, біохімічних і функціональних методик та математико-статистичного аналізу, що підтверджує методичну обґрунтованість виконаної роботи.

У третьому розділі представлено результати аналізу змін у тканинах нирок щурів за умов поєднаної дії гострого десинхронозу і ліпополісахарид-індукованої системної запальної відповіді. Автор послідовно описує порушення метаболічних, запальних, окисно-нітрозативних параметрів та функціонального стану нирок, що дозволяє всебічно охарактеризувати патофізіологічні механізми цих процесів.

Четвертий розділ присвячений аналізу впливу фармакологічних модуляторів циркадіанної системи – мелатоніну, кверцетину та глутамату натрію – на зазначені розлади. Оцінено їх ефекти на рівні системної запальної відповіді, окисно-нітрозативного стресу, пероксидного ураження та порушення гомеостатичних функцій нирок.

У п'ятому розділі автор узагальнює отримані результати, порівнює їх з даними сучасної наукової літератури та формулює патогенетичні висновки щодо ролі дестабілізації біологічних ритмів у розвитку ниркових порушень.

У «Висновках» чітко відображено досягнення поставленої мети та реалізацію наукових завдань, наведено узагальнення з відповідними кількісними показниками. Практичні рекомендації мають потенціал до подальшої доклінічної та клінічної апробації.

Таким чином, структура дисертаційної роботи є логічною, послідовною та відображає високий рівень наукової організації дослідження, що забезпечує цілісність та переконливість представлених результатів.

9. Відомості щодо відсутності порушень академічної доброчесності.

У дисертаційній роботі Олександра Михайловича Гутніка не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації даних чи інших порушень академічної доброчесності, які могли б поставити під сумнів авторство та самостійність проведеного дослідження. Текст роботи є оригінальним, усі використані джерела належним чином процитовані та наведені у списку літератури. Всі сформульовані в дисертації наукові положення, результати та висновки належать автору та є результатом його власної наукової діяльності.

10. Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

У цілому дисертаційна робота Олександра Михайловича Гутніка виконана на високому науковому рівні, принципових недоліків не виявлено. Водночас, поряд із загальнопозитивною оцінкою, варто звернути увагу на окремі аспекти, які могли б підвищити наукову цінність і методологічну довершеність дослідження:

1. З огляду на те, що робота присвячена вивченню ролі циркадіанного осцилятора, доцільним було б доповнити дослідження аналізом експресії ключових годинникових генів (наприклад, *Bmal1*, *Clock*, *Per*) у тканинах нирок. Це дозволило б безпосередньо оцінити ступінь циркадіанної дизрегуляції в обраному експериментальному контексті.

2. У роботі відсутні контрольні групи тварин, яким вводили лише розчинники, використані для мелатоніну та кверцетину. Враховуючи потенційний біологічний вплив допоміжних речовин, включення таких груп дозволило б більш точно інтерпретувати результати.

3. Порівняння ефективності мелатоніну та кверцетину з відомими антиоксидантами або нефропротекторами могло б посилити практичну значущість дослідження та дозволило б краще оцінити потенціал досліджуваних сполук у контексті перспектив фармакотерапії.

4. У тексті дисертації трапляються поодинокі граматичні та стилістичні неточності, які не впливають на загальний зміст, проте потребують редакторського доопрацювання з метою підвищення рівня наукового викладу.

Зазначені зауваження мають переважно рекомендаційний характер, не знижують наукової цінності дисертаційної роботи й не впливають на її загальну позитивну оцінку.

У процесі ознайомлення з дисертацією виникли окремі питання, які доцільно було б обговорити в межах наукової дискусії:

1. Які механізми кооперативної взаємодії між мітросомальними монооксигеназами, NO-синтазами та мітохондріями лежать в основі генерації супероксидного аніон-радикала в умовах комбінованого впливу ліпополісахариду та гострого десинхронозу?

2. Яким чином зміни активності конститутивних ізоформ NO-синтази впливають на баланс між прооксидантною та антиоксидантною системами, особливо з огляду на можливе роз'єднання (неспряження) цього ферменту?

3. У концептуальній схемі Ви позначаєте кверцетин як інгібітор активації NF-κB. На які експериментальні чи літературні джерела Ви спираєтесь, вказуючи на механізм його впливу на цей транскрипційний фактор?

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Гутніка Олександра Михайловича на тему «Роль порушень циркадіанного осцилятора у метаболічних і функціональних розладах нирок при ліпополісахарид-індукованій системній запальній відповіді» (виконана під керівництвом доктора медичних наук, професора Костенка Віталія Олександровича) за методичним рівнем виконання досліджень, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, повнотою публікування результатів дисертації, а також оригінальністю текстових даних (відсутністю порушення академічної доброчесності) відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України від 22.01.2022 р. № 44 щодо здобуття ступеня доктора філософії та вимогам до оформлення дисертації, що затверджені наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р., а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії галузі знань 22-Охорона здоров'я зі спеціальності 222 – Медицина.

Офіційний опонент:

Доцент кафедри медичної біології та фізики,
мікробіології, гістології, фізіології та
патофізіології Чорноморського національного
університету імені Петра Могили МОН України,
кандидат біологічних наук, доцент

Лариса ЧЕБОТАР