

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН та АМН України,
доктор біологічних наук, професор
С.В. Комісаренко
протокол № _____ від _____ 202_ р



ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації

Гудкової Ольги Олексіївни

«Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені», поданої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091

Актуальність теми дисертаційної роботи.

Експериментальні дослідження останніх десятиліть переконливо засвідчили, що за патологічних умов в органах та тканинах ссавців багаторазово зростають рівні біогенних амінів та поліамінів, які є субстратами амінооксидаз. В реакціях окисного дезамінування цих сполук одночасно генеруються відповідний до субстрату альдегід, пероксид водню та аміак, які є патогенетичними чинниками великої низки захворювань через індукування ними оксидативно/карбонільного та, можливо, нітрозативного стресів. Субклітинна локалізація та субстратна специфічність амінооксидаз визначає їх функціональну значимість у контролі важливих метаболічних шляхів у клітині як за умов норми, так і патології. Окремі амінооксидази інтенсивно вивчаються, а рівень їх активності використовують як клінічні маркери. Водночас, на сьогодні в літературі відсутня інформація щодо комплексного вивчення ролі амінооксидаз у прогресуванні захворювань нирки та легені. Дослідження залучення представників родини амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки і легені та можливості застосування їх селективних інгібіторів як потенційних терапевтичних агентів є актуальним як для поглиблення уявлень про механізм дії цих ензимів у організмі, так і з практичної точки зору для оптимізації лікування патологічних станів цих органів.

Мета і завдання дослідження.

Мета дисертаційної роботи: дослідити залучення амінооксидаз: FAD-вмісної поліамінооксидази (PAO) та Cu-вмісних, діамінооксидази (DAO), розчинної і мембранозв'язаної форм семікарбазидчутливої амінооксидази (SSAO), позаклітинної лізілоксидази (LOX), до розвитку патологічних станів нирки та легені, а також потенційний вплив семікарбазиду, інгібітора Cu-

амінооксидаз, на прояви захворювань.

Відповідно до мети було сформульовано наступні завдання:

1) на моделі рабдоміолізу у щурів дослідити рівні активності амінооксидаз (SSAO, DAO та PAO), а також антиоксидантних ензимів (каталази та супероксиддисмутази), у нирці та тимусі піддослідних тварин;

2) на моделі стрептозотоцин-індукованого діабету та діабету, ускладненого рабдоміолізом, у щурів визначити активність SSAO, про- та антиоксидантних ензимів, а також показники нітрозативного стресу в нирці, крові та печінці піддослідних тварин;

3) в досліді *in vitro* з'ясувати шляхи метаболічного перетворення семікарбазиду й ідентифікувати продукти його деградації;

4) на моделі хронічної овальбумін-індукованої бронхіальної астми у мурчаків дослідити причетність Cu-вмісних амінооксидаз до патологічних змін тканини легені як органу-мішені шляхом застосування семікарбазиду;

5) на моделі Блеоміцин С-індукованого фіброзу легені у щурів дослідити можливість модулювального впливу семікарбазиду на профіль активностей АОаз (SSAO, LOX, DAO та PAO), показники оксидативно/карбонільного стресу в легені та крові;

6) на моделі високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс миші оцінити рівні активності амінооксидаз, SSAO, LOX, DAO та PAO, альдегідегідрогенази, лактатдегідрогенази, а також стан окисного метаболізму клітин за вмістом пероксиду водню та рівнями активності антиоксидантних ензимів залежно від рівня експресії адаптерного протеїну Ruk/CIN85.

Об'єкт дослідження. Молекулярні механізми патогенезу захворювань нирки та легені.

Предмет дослідження. Біологічна роль амінооксидаз у розвитку патології нирки та легені експериментальних тварин.

Методи дослідження: моделювання патологічних станів нирки та легені у експериментальних тварин, модель високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс, методи препаративної біохімії, клітинної та молекулярної біології, ензимології, диференційне центрифугування, спектрофотометрія, спектрофлуорометрія, цитофлуорометрія, імуноензимний аналіз; ЕПР-спектроскопія, світлова мікроскопія, гістологічний та морфометричний аналіз зразків тканин, статистичний аналіз.

Наукова новизна одержаних результатів. Здійснено комплексну оцінку профіля активності амінооксидаз та показників оксидативно/нітрозативного стресу у тканинах органів-мішеней експериментальних тварин за патологічних станів різного генезу. Вперше на моделях захворювань на рабдоміоліз та цукровий діабет 1 типу, органом-мішенню яких є нирка, виявлено багаторазове підвищення відносно контролю активності досліджених амінооксидаз, що позитивно корелювало із зміною активності антиоксидантних ензимів та ступенем нітрозативного стресу. Вперше на моделях хронічної бронхіальної астми та індукованого легеневого фіброзу продемонстровано, що у разі споживання тваринами *per os* семікарбазиду попереджався розвиток

морфологічних ознак ураження легеневої тканини, спричиненого активуванням Cu-вмісних амінооксидаз та розвитком оксидативно/нітрозативного стресу. Встановлено факт розкладання семікарбазиду родиною ензимів цитохромів P450 печінки щурів та визначено безпечну для організму концентрацію цього інгібітора Cu-вмісних амінооксидаз.

Вперше на моделі високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс показано, що послаблення агресивності їх фенотипу внаслідок нокдауну адаптерного протеїну Ruk/CIN85 позитивно корелює зі зниженням активності діамінооксидази, семікарбазидчутливої амінооксидази та позаклітинної лізилоксидази, які контролюють проліферативний потенціал та жорсткість позаклітинного матриксу клітин.

Теоретичне значення одержаних результатів. Теоретичні положення, сформульовані за результатами проведеної роботи, розширюють існуючі уявлення про молекулярні механізми розвитку патології нирки та легені та засвідчують безпосередню причетність амінооксидаз до ураження тканин цих органів.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень можуть бути використані як експериментальний базис для пошуку та розробки сполук з високою інгібіторною активністю по відношенню до амінооксидаз, що дозволило б підвищити ефективність програм комплексного лікування захворювань нирки та легені.

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, яке було реалізоване автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих і виконаних протягом 2011-2022 р.р. Особистий внесок здобувача полягає в участі у формулюванні мети і основних завдань роботи, аналізі даних літератури, плануванні та виконанні експериментальних досліджень, статистичному аналізі результатів, інтерпретації та узагальненні отриманих даних, формулюванні висновків роботи за участі наукового керівника та співавторів публікацій.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 9 статей у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базі даних Scopus:

1. **Gudkova OO**, Latyshko NV, Shandrenko SG. Amine oxidases as important agents of pathological processes of rhabdomyolysis in rats. *Ukr. Biochem. J.*, 2016, 88(1):79-87. <https://doi.org/10.15407/ubj88.01.079> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у розробці методу визначення активності амінооксидаз у зразках тканин експериментальних тварин та проведенні експерименту, статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

2. **Gudkova OO**, Latyshko NV, Zaitseva OV, Shandrenko SG. Purification procedure and assay for the activity of lysyl oxidase. *Ukr. Biochem. J.* 2018; 90(5):98-105. <https://doi.org/10.15407/ubj90.05.098> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у розробці флуоресцентного методу визначення активності лізилоксидази, аналіз та статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

3. **Gudkova OO**, Krysiuk IP, Shandrenko SG. Innovative proposals on the implementation of dietary supplements for diabetes mellitus and helicobacteriosis.

Science and Innovation. 2018, 14(5):37-42. <https://doi.org/10.15407/scine14.05.034> (особистий внесок: аналіз даних літератури, узагальнення результатів дослідів *in vivo* та підготовка матеріалу до публікації).

4. **Hudkova OO**, Krysiuk IP, Kishko TO, Popova NM, Drobot LB, Latyshko NV. Semicarbazide diminishes the signs of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Ukr. Biochem. J.*, 2021, 93(5):72-81. <https://doi.org/10.15407/ubj93.05.072> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у проведенні експерименту, статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

5. **Hudkova O**, Krysiuk I, Drobot L, Latyshko N. Rhabdomyolysis Attenuates activity of Semicarbazide Sensitive Amine Oxidase, a Marker of Nephropathy in Rats with Streptozotocin-induced Diabetes. *Ukr. Biochem. J.*, 2022, 94(1):23-32. <https://doi.org/10.15407/ubj94.01.023> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у проведенні експерименту, статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

6. **Hudkova O**, Luhovskyi S, Drobot L, Latyshko N. Involvement of Cu-containing Amine Oxidases in the Development of Lung Pathology in Ovalbumin-Induced Bronchial Asthma in Guinea Pigs. *Ukr. Biochem. J.*, 2022, 94(3):26-38 <https://doi.org/10.15407/ubj94.03.026> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у проведенні експерименту, статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

7. Labudzynski DO, Zaitseva OV, **Gudkova OO**, Latyshko NV, Veliky MM. Vitamin D₃ contribution to the regulation of oxidative metabolism in the liver of diabetic mice. *Ukr. Biochem. J.*, 2015, 87(3):75-90. <https://doi.org/10.15407/ubj87.03.075> (особистий внесок: участь у проведенні експерименту, аналізі отриманих даних та підготовці матеріалу до публікації).

8. Horak IR, **Hudkova OO**, Latyshko NV, Kishko TO, Khudiakova OV, Krysiuk IP, Shandrenko SG, Drobot LB. Adaptor protein Ruk/CIN85 affects redox balance in breast cancer cells. *Ukr. Biochem. J.* 2020; 92(4):24-34. <https://doi.org/10.15407/ubj92.04.024> (особистий внесок: аналіз даних літератури, участь у проведенні експерименту, статистична обробка результатів, підготовка матеріалу до публікації).

9. Horak IR, Latyshko NV, **Hudkova OO**, Tokarchuk KO, Kishko TO, Yusova OI, Drobot LB, Tykhomyrov AA. Adaptor protein Ruk/CIN85 regulates redox balance in 4T1 mouse breast cancer cells exposed to plasmin(ogen). *Experimental oncology*. 2022, 44(1):31-38. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17241> (особистий внесок: участь у проведенні експерименту, аналіз отриманих даних, підготовка матеріалу до публікації).

Апробація результатів дослідження.

Одержані результати дисертації було апробовано на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях:

1. VIII міжнародна науково-технічна конференція «Актуальні питання біологічної фізики та хімії» 23-27 квітня 2012р .м.Севастополь.
2. XI Український біохімічний конгрес. м. Київ, 4-8 жовтня 2014 р.

3. X Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології», 8-11 квітня 2014р., Львів.
4. 15th FEBS Young Scientists Forum and 40th FEBS Congress 2nd to 4th July 2015, Berlin, Germany.
5. FEBS3+ Meeting – XIth Parnas Conference – Young Scientists Forum “Biochemistry and Molecular Biology for Innovative Medicine”, Kyiv, Ukraine, August 30-31, 2018/
6. 6th Ukrainian Congress for Cell Biology with international representation. 18-21 June 2019, Yaremche, Ukraine.
7. XII Український біохімічний Конгрес. 30 вересня – 4 жовтня 2019 р, Тернопіль, Україна.
8. The 5th international scientific conference current problems of biochemistry, cell biology and physiology. 1-2 October, 2020 Dnipro, Ukraine.
9. Конференція-конкурс молодих вчених “Актуальні проблеми біохімії і біотехнології – 2021”, Київ, 20-21 травня 2021.
10. The 27th Congress of the European Association for Cancer Research, 09-12 June 2021.
11. The young scientists conference "Modern oncology: from basic research to new therapeutic approaches", Kyiv, Ukraine, 12-13 October 2021.
12. Конференція-конкурс молодих вчених “Актуальні проблеми біохімії і біотехнології – 2022”, Київ 31 травня 2022.
13. The 6th International scientific conference “Current Problems of Biochemistry, Cell Biology and Physiology”, 6-7 October 2022, Dnipro, Ukraine.

Інформація щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційних досліджень.

Дослідження на тваринних моделях здійснено згідно вказівок і рекомендацій Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986) та «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (Київ, 2006). Дослідження на сублініях високоінвазивних клітин карциноми легені Льюїс миші, отриманої за допомогою shRNA технології, здійснювались із дотриманням норм біологічної безпеки. Результати експертизи підтверджено висновком Комісії з біоетики і біобезпеки Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол №2 від 22.12.2022 р.).

Висновок.

Таким чином, за результатами публічної презентації Гудковою Ольгою Олексіївною наукових результатів дисертації «Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені» та їх обговорення на розширеному засіданні професорсько-викладацького складу Випускової кафедри ЗВО Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України та наукового семінару «Актуальні проблеми сучасної біохімії» Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України ухвалили:

1. Вважати, що дисертація Гудкової Ольги Олексіївни на тему «Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені» є

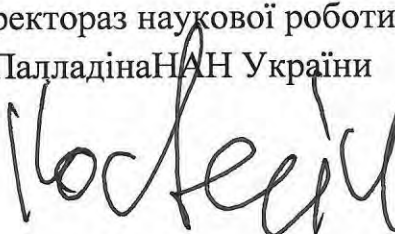
завершеною науковою працею та відповідає спеціальності 091 «Біологія».

2. Вважати, що дисертація Гудкової Ольги Олексіївни відповідає «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою № 261 Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року (пп. 25 та 29), пп. 6, 7, 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 № 44 від 12 січня 2022 р.

3. Рекомендувати дисертацію Гудкової Ольги Олексіївни на тему «Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені» до захисту на засіданні разової спеціалізованої вченої ради за спеціальністю 091 Біологія.

27.12.2022 р.

Головуючий, заступник директора з наукової роботи
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України,
д.б.н., професор



С.О. Костерін

Завідувач Випускової кафедри
ЗВО Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
д.б.н., с.н.с.



Л.Г. Бабіч

Вчений секретар
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України
к.б.н.



З.С. Протасова