

РІШЕННЯ
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Разова спеціалізована вчена рада Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна Національної академії наук України, м. Київ (наказ №5 від 23.03.2023 р.), прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія на підставі прилюдного захисту дисертації «Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені» за спеціальністю 091 Біологія
«10» травня 2023 року

Гудкова Ольга Олексіївна, 1966 року народження, громадянка України.

Освіта вища: закінчила у 1989 році Київський ордена Леніна політехнічний інститут, факультет електронної техніки за спеціальністю «промислова електроніка».

Працює з 04.01.1999 р. до цього часу в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. За цей період обіймала посади: провідного інженера відділу регуляції обміну речовин (1999-2017 рр), провідного інженера відділу сигнальних механізмів клітини (2018-2019 рр), молодшого наукового співробітника відділу сигнальних механізмів клітини (2019- по теперішній час).

У червні 2020 р. була прикріплена до виконання Освітньо-наукової програми підготовки докторів філософії в аспірантурі Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за спеціальністю 091 «Біологія» (наказ №18 від 24.06.2020 р), яке достроково завершила у жовтні 2022.

Дисертацію виконано на базі відділів регуляції обміну речовин та сигнальних механізмів клітини Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, м. Київ, у період з 2011 по 2022 рр.

Науковий керівник - Дробот Людмила Борисівна, д.б.н, професор, завідувач відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Здобувач має 9 наукових праць за темою дисертації, з них 9 статей у наукових фахових виданнях України.

1. **Gudkova O.O.**, Latyshko N.V., Shandrenko S.G. 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>

2. **Gudkova O.O.**, Latyshko N.V., Zaitseva O.V., Shandrenko S.G. 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>

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>.

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>
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>
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>
7. Horak I.R., **Hudova O.O.**, Latyshko N.V., Kishko T.O., Khudiakova O.V., Krysiuk I.P., Shandrenko S.G., Drobot L.B.. 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>
8. 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>
9. Labudzynskiy D.O., Zaitseva O.V., **Gudkova O.O.**, Latyshko N.V., Veliky M.M. 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>

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради, а також присутні на захисті фахівці.

Матишевська Ольга Павлівна, д.б.н, професор кафедри біохімії, провідний науковий співробітник відділу науково-технічної інформації Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Перший рецензент, Данилович Юрій Володимирович, д.б.н., с.н.с за спеціальністю «Біохімія», провідний науковий співробітник відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Оцінка позитивна із зауваженнями:

1. Факт регуляції біохімічних показників за діабету в умовах рабдоміолізу потребує більш коректного формулювання.

2. Потребує пояснення, чи доцільно з використанням клітин карциноми легені Льюїс із різним ступенем експресії Ruk/CIN 85 вивчати молекулярні механізми, які лежать в основі бронхіальної астми та фіброзу легені.

3. Для з'ясування ролі посилення синтезу аргініну за рахунок зростання рівня аміаку, варто було б провести визначення аргіназної активності, яка є маркером багатьох патологічних процесів.

4. У роботі не відображено значення аміаку в синтезі нітросполук за участі активних форм кисню (АФК).

5. Текст перевантажений україномовними та англійськими скороченнями, які слід розшифрувати при першому використанні і в подальшому його притримуватись.

Здобувач **Гудкова О.О.** надала відповіді на зауваження, які задовольнили **Даниловича Ю.В.**

Другий рецензент, Шиманський Ігор Олександрович, к.б.н, старший науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. Оцінка позитивна із зауваженнями:

1. У роботі не наведено достатньо даних щодо біохімічних маркерів, які характеризують розвиток діабетичної нефропатії, а також відсутнє гістологічне підтвердження структурних змін нирки. Вміст карбоксиметиллізину вважається маркером доклінічного розвитку діабетичної нефропатії, тобто скоріше є предиктором ризику розвитку даного діабетичного ускладнення.

2. Активність деяких амінооксидаз (АОаз) було оцінено не в усіх використаних моделях та досліджуваних тканинах. 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 скавенджера вільних радикалів. Зазначене ускладнює відповідь на ключове 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 розвиваються 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 АОаз. У роботі зовсім не враховано 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 семікарбазидчутливої амінооксидази (SSAO) як маркера діабетичної нефропатії.

5. Достатньо дискусійним, на мій погляд, є те, яким чином автор на основі отриманих результатів дослідження інтерпретує зв'язок амінооксидаз з системою монооксиду азоту.

6. Наступне питання стосується інтерпретації результатів, отриманих на моделі ускладнення цукрового діабету рабдоміолізом. Автор наголошує, 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, у роботі не наведено даних стосовно патологічних змін у самих нирках за діабету, ускладненого рабдоміолізом. Виявлене “парадоксальне” зниження активності АОаз 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 АОаз. Однак, кожне з цих тверджень, звісно, потребує експериментального підтвердження.

7. У тварин з експериментальною овальбумін-індукованою бронхіальною астмою встановлено істотну невідповідність рівня активності діамінооксидази/гістамінази (DAO) в рідині БАЛ -повністю, 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 рідині бронхо-альвеолярного лаважу за умов даного експерименту, а не тільки покладатись на результати, отримані іншими 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 і 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 цитохромів Р-450 (СYP450), однак при цьому показано, що антибіотик блеоміцин сам по собі здатен значно активувати систему цитохрому СYP450 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 не слід відкидати можливість 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 активності антиоксидантної системи за патологічних станів досліджували активність лише супероксиддисмутази (СОД) та каталази, а система глутатіону (крім глутатіонпероксидази (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. Варто зазначити, 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.

Здобувач Гудкова О.О. надала відповіді на зауваження, які задовольнили Шиманського І.О.

Столяр Оксана Борисівна, д.б.н, професор кафедри хімії, професор кафедри хімії та методики її навчання, керівник науково-дослідної лабораторії порівняльної біохімії і молекулярної біології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира ГНАТЮКА МОН України. Оцінка позитивна із зауваженнями:

1. Авторка зазначає (с. 4), що за патологічних умов рівні біогенних амінів та поліамінів в організмі людини зростають. У роботі ми не знайшли відповіді на питання щодо ефективності амінооксидаз у їх видаленні та доцільності такої активності з огляду на їх функції у контексті публікації «*Polyamines: Toxic or Panacea?*» (Zahedi et al., 2022, <https://doi.org/10.3390/medsci10030038>).

2. Термін «розчинна» амінооксидаза щодо ензиму плазми крові, хоча і практикується у літературі, бажано замінити терміном «циркулююча».

3. С. 46 «DAO - єдиний ензим здатний контролювати ендогенні рівні гістаміну»... Діамінооксидаза насправді не є єдиним ензимом, що забезпечує окисне дезамінування гістаміну, хоча і є основним поза тканинами головного мозку. Крім того, цей ензим працює і з іншими субстратами (відповідно до назви).

4. С. 25 «Біогенні аміни як внутрішньоклітинні посередники», а як позаклітинні?

5. У експериментах отримано досить високі значення активності амінооксидаз (порядку сотень нмоль H_2O_2 /хв/мг протеїну). Оскільки у літературі повідомляється про їх на порядок-два меншу активність, слід аргументувати відмінності.

6. У описі використаних методів не вказано, що активність супероксиддисмутази у цитоплазматичних екстрактах відповідає СОД1 (тобто цитоплазматична Cu,Zn-SOD) + СОД2 (Mn-SOD мітохондрій).

7. Робота перевантажена скороченнями. Всього налічується 69 скорочень, з яких, на нашу думку, можна було уникнути термінів, невживаних у біохімії.

8. У розділі про практичне значення роботи (с. 4) і по тексту вказуються показники вмісту семікарбазиду у концентраціях 0,005-0,05%, але це масові частки, і незрозуміло, стосовно чого вони визначені.

9. У таблицях Розділу 3 не завжди відзначено вірогідні від контролю відмінності та не уніфіковано кількість значущих цифр у показниках.

Здобувач Гудкова О.О. надала відповіді на зауваження, які задовольнили Столяр О.Б.

Луцак Володимир Іванович, д.б.н., професор кафедри біохімії, професор кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету імені Василя СТЕФАНІКА МОН України. Оцінка позитивна із зауваженнями:

1. Наявність регуляторного взаємозв'язку між обміном оксиду азоту та функціонуванням семікарбазидчутливої амінооксидази через амоній залишається достатньо дискусійною.

2. Чи дає можливість ЕПР-спектроскопія виокремити АФА та АФК повністю?

3. Який з продуктів реакції окисного дезамінування амінів за участі амінооксидаз відіграє провідну роль у патологічних процесах у нирці та легені?

4. Не висвітлено механізм регулювання експресії генів, що кодують амінооксидази.

5. Селективність семікарбазиду щодо мідь-вмісних амінооксидаз можна вважати дискусійним питанням.

6. Для оцінювання ступеня ураження нирки бажано було провести гістологічний аналіз.

7. У роботі відсутні дані щодо визначення рівнів поліамінів та біогенних амінів у тканинах тварин.

8. Семікарбазид є незворотним інгібітором. Які переваги та недоліки його використання?

9. Чи робились спроби оцінити диференційну роль окремих амінооксидаз у розвитку досліджуваних патологічних станів з використанням селективних інгібіторів?

10. У тексті зустрічаються описки та технічні помилки, а також кальки з іноземних мов.

Здобувач Гудкова О.О. надала відповіді на зауваження, які задовольнили Луцака В.І.

Голова Матишевська зазначила, що висловлені членами разової спецради та присутніми на захисті фахівцями зауваження не применшують науково-практичного значення отриманих результатів та роботи в цілому, а можуть бути корисними для планування подальших досліджень у цьому напрямку.

У обговоренні взяли участь присутні на захисті фахівці.

Великий Микола Миколайович, д.б.н., професор, завідувач відділу біохімії вітамінів та коензимів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. Оцінка позитивна із зауваженням: використання в якості методичного підходу комбінування двох патологічних станів, цукрового діабету 1 типу та рабдоміолізу навряд чи можна вважати адекватним.

Філоненко Валерій Вікторович, д.б.н., чл.-корр., проф., завідувач відділу сигнальних систем клітини Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Дробот Людмила Борисівна, д.б.н., професор, завідувач відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, коротко охарактеризувала здобувача як високопрофесійного науковця.

Голова разової спецради **Матишевська О.П.** підсумувала загальний висновок членів спецради про відповідність дисертації Гудкової Ольги Олексіївни на тему «Залучення амінооксидаз до розвитку патологічних станів нирки та легені вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261; «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 січня 2022 р. № 44.

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,

«Проти» немає

На підставі відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує Гудковій Ользі Олексіївні ступінь доктора філософії з галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю - 091 Біологія.

Голова спеціалізованої
вченої ради, доктор
біологічних наук, професор



Матишевська О. П.

