

ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО РЕЦЕНЗЕНТА

професора кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, доктора медичних наук, професора Старченка Івана Івановича на дисертаційну роботу Ворошилової Тетяни Анатоліївни за темою «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 «Медицина»

Актуальність обраної теми.

Близько третини всіх випадків смерті у світі припадає на серцево-судинні захворювання. Інвалідизація та смертність при цих захворюваннях, серед соціально значущої вікової групи населення, є серйозною проблемою.

Інтерстицій міокарда шлуночків (ІМШ) вивчений пухкою волокнистою сполучною тканиною (ПВСТ). Міжклітинна речовина забезпечує формування середовища для нормального функціонування робочих компонентів міокарда, до яких належить гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР), що включає мережу артеріол, капілярів і венул. ГМЦР, в інтерстиції міокарда шлуночків (ІМШ), проникають у глиб сполучної тканини міокарда і забезпечують кровопостачання кожної клітини цієї ділянки серцевого м'яза. Цей процес життєво важливий для нормального функціонування серця, оскільки без достатнього надходження кисню та поживних речовин клітини міокарда не можуть виконувати свою функцію ефективно.

Дослідження ГМЦР в ІМШ показують, по-перше це розуміння патологічних процесів, таких як ішемія, гіпоксія та ремоделювання міокарда, що дозволяють розробляти ефективніші методи діагностики та лікування серцево-судинних захворювань. По-друге, це оцінка ефективності лікування

(медикаментозної терапії), а також методи реабілітації після серцевих операцій або інфаркту міокарда. По-третє, розвиток нових технологій – методики візуалізації мікросудин, що сприяє покращенню діагностики та хірургічних втручань. І накінець останнє, це – прогнозування ускладнень. Дослідження ГМЦР дозволяють виявляти фактори ризику розвитку ускладнень при серцево-судинних захворюваннях та вживати заходів щодо їх профілактики.

Трипторелін та його аналоги призводять до порушення синтезу лютеїнізуючого гормону та пригнічення вироблення тестостерона. Цей факт має особливе значення при проведенні лікування онкологічної патології, зокрема такої, як рак простати. В свою чергу тестостерон відіграє важливу роль у функціонуванні серцево-судинної системи, а його дефіцит призводить до підвищення ризику серцево-судинної смертності. Замісна терапія тестостероном може бути використана як ефективний засіб для корекції цих змін у серці, хоча вона працює частково і не у всіх клінічних випадках. Причина такої часткової ефективності може полягати у відсутності даних про молекулярні механізми змін, які відбуваються в серці при дефіциті тестостерону.

Тестостерон має здатність стимулювати зміну поляризації макрофагів тканини в сторону переважання поляризації за М2-фенотипом (протизапальний фенотип), тому за умов дефіциту тестостерону спостерігається переважання поляризації макрофагів за М1-фенотипом (прозапальний фенотип). Макрофаги тканини поляризовані за М1-фенотипом є потужним джерелом активних форм кисню та інших вільних радикалів, що може пояснити зростання базової продукції супероксидного аніон-радикалу, яке спостерігалось при введенні триптореліну в нашому дослідженні. Високі концентрації лютеїнізуючого гормону мають здатність інгібувати синтез оксиду азоту від NO-синтаз, тому зниження його концентрації під впливом триптореліну має підвищувати його продукцію.

Корвітин – це фармацевтичний препарат основною діючою речовиною якого є поліфенол кверцетин. Склад препарату корвітин: кверцетин (основна діюча речовина), повідон. Натрія гідроксид виступає в ролі регулятора кислотно-основного балансу препарату. Кверцетин має потужні антиоксидантні властивості. Окрім прямої нейтралізації вільних радикалів шляхом їх поглинання кверцетин також знижує продукцію активних форм кисню та має потужний регуляторний вплив на редокс-чутливі транскрипційні фактори. Кверцетин здатен знижувати активність індукбельної ізоформи NO-синтази. Гальмівний ефект кверцетину також може бути пов'язаний із його здатністю регулювати поляризацію макрофагів тканин, спрямовуючи її у бік переважання M2-фенотипу.

Таким чином, дослідження ГМЦР у ІМШ відіграють ключову роль допомагаючи підвищити ефективність лікування серцево-судинних захворювань та покращити прогнози для пацієнтів. Водорозчинна форма кверцетину (корвітин) не впливаючи на фармакологічні властивості триптореліну при їх поєднаному застосуванні ефективно нейтралізує трипторелін-індукований оксидативний стрес у серці щурів за рахунок зниження продукції активних форм кисню, прямого антиоксидантного впливу, та функціонуванні циклу оксиду азоту в серці щурів.

Враховуючи все сказане вище була поставлена конкретна мета роботи та 5 завдань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами

Дисертація виконана на кафедрі гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету в рамках планової науково-дослідної теми: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Дисертаційна робота Ворошилової Т.А. є оригінальною науковою працею, яка виконана на належному методичному та теоретичному рівні. У дисертаційній роботі було застосовано сучасні методи дослідження, адекватні поставленим завданням. Основні положення та висновки дисертації базуються на достатній кількості експериментів та ґрунтовному аналізі отриманих даних за допомогою коректно обраних статистичних методів. Все це свідчить про обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, а також про їх достовірність.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше показано, що введення триптореліну призводило до розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), активації макрофагів та тканинних базофілів по типу асептичного запалення в ІМШ з явними проявами морфологічних ознак на 3-12 місяці дослідження та корекції цього стану введенням кверцетина.

Вперше встановлено, що реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшенням кровонаповнення яке максимально достовірно проявляється на 6 місяць експерименту в обох експериментальних групах, але без порушення віддтоку в групі з додаванням кверцитину.

Вперше отримані результати що є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень ГМЦР ІМШ при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-серце».

Вперше показано, що введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в серці щурів внаслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту, а також корекція цього стану введенням кверцетину.

Вперше доказано, що введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпрезентуючих клітин, яке характеризуються змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2, що за їх кількісним співвідношенням свідчить про значення не тільки для розуміння функціонування цих клітин, а й для розробки ефективних методів лікування на основі моделювання поляризаційного їх статусу.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

Наукові результати та основні положення дисертаційного дослідження повністю викладені у 7 наукових роботах, з них: 4 статей у фахових виданнях України (3 входять до наукометричної бази Scopus та Web of Science) та 3 тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Оцінка змісту дисертації:

Структура, стиль та обсяг дисертації

Дисертація викладена на 188 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 249 найменувань, розміщених на 36 сторінках. Робота проілюстрована 41 рисунками, 64 мікрофотографіями та 5 таблицями.

Зміст та результати роботи відповідають спеціальності 222 Медицина. Дисертація виконана державною мовою. Стиль та оформлення дисертації відповідає вимогам, що висуваються до наукових праць на здобуття наукового ступеня доктор філософії (кандидат наук). Викладення матеріалу відзначається системністю, послідовністю, обґрунтованістю.

У **Вступі** визначено актуальність проблеми, зв'язок з науковими планами, мета і завдання дослідження, об'єкт і предмет дослідження, апробація та особистий внесок дисертанта, впровадження результатів дослідження та структура дисертації.

Мета дисертації сформульована чітко і формує високу наукову та практичну значущість роботи. Розподіл задач на підпункти демонструє системний підхід до вирішення поставлених завдань. Мета та задачі роботи відповідають сучасним запитам у медицині, а також демонструють міждисциплінарний підхід до проблеми патологій серцево-судинної та онкологічної патології. Чітка структура дослідження, використання інноваційних методів і акцент на комплексному підході забезпечують високий потенціал результатів дослідження.

Визначені **об'єкт та предмет дослідження**. Показана наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, апробацію та об'єм матеріалів дисертації. Об'єкт та предмет дослідження повністю відповідають меті та завданням роботи.

В **Огляді літератури** надано структурований аналіз сучасних наукових публікацій про характеристику структурних компонентів інтерстицію міокарда шлуночків у нормі, при депривації синтезу тестостерону та при введенні кверцетину. Дана загальна характеристика сполучнотканинного простору міокарда в нормі та при серцевій недостатності. Показаний вплив пригнічення синтезу гонадотропін-рилізінг гормону на функціонування та структурну організацію міокарда шлуночків та ефект використання кверцетину при ряді патологічних станів.

У розділі **Матеріали і методи** автор детально наводить використані методи дослідження, а саме: експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах; загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації інтерстицію міокарда шлуночків, а саме ГМЦР та сполучно-тканинного і клітинного компонентів; біохімічні методи – для визначення впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном; імуногістохімічні – показати зміни в поляризації m1/m2-макрофагів ІМШ при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів на тлі введення кверцетину; морфометричний метод

та статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм.

Результати власних досліджень викладені автором у наступних чотирьох розділах.

У **третьому розділі** дана характеристика інтерстицію міокарда шлуночків при введенні триптореліну та корекції стану введенням кверцетину у щурів. Характеристика інтерстицію міокарда шлуночків (ІМШ) у контрольній групі щурів. Показана реакція структурних компонентів ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином. Дана характеристика сполучно-тканинного компонента ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином, а також характеристика клітинного компонента ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином. Характеристика ГМЦР ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином.

Четвертий розділ присвячений впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Показаний вплив водорозчинної форми кверцетину на продукцію супероксидного аніон-радикалу в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Дана характеристика впливу водорозчинної форми кверцетину на активність антиоксидантних ферментів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном, а також показаний вплив водорозчинної форми кверцетину на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Досліджена дія водорозчинної форми кверцетину на активність ферментів циклу оксиду азоту в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

У **п'ятому розділі** показана реакція довготривалого блокування релізінггормону на зміни в поляризації макрофагів серця на тлі введення

кверцетину у щурів. Дана характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну, та показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну і кверцетину. Показника активності каспаза-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів самців та введенні кверцетину.

У шостому розділі **Аналіз та узагальнення результатів** автор, спираючись на літературні дані, обговорює можливі фізіологічні механізми отриманих результатів. Рівень аналізу матеріалу із залученням низки наукових публікацій вказує на ерудицію дисертанта.

Висновки в повній мірі відбивають отримані результати та відповідають поставленим завданням.

Практичне значення отриманих результатів

Доказано, що водорозчинна форма кверцетину (корвітин) є ефективним засобом для корекції трипторелін-індукованої надмірної продукції активних форм кисню та оксидативного ураження тканин серця на всіх термінах експерименту.

Перші терміни блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (1 та 3 місяці) супроводжуються зниженням продукції оксиду азоту в серці щурів, що загрожує розвитком ішемічних ушкоджень міокарду. З 6 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном спостерігається надмірна продукція оксиду азоту в серці щурів за рахунок збільшення активності індукцибельної ізоформи NO-синтази.

Корвітин ефективно зменшує надмірну продукцію оксиду азоту в серці щурів, яка спостерігається з 6 місяця експерименту та не викликає гіпоксичних ушкоджень міокарду, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи введення триптореліну.

ІМШ, при введенні кверцетину, як коректора виникнення асептичного запалення і як наслідок – збільшення прошарків в ПВСТ, характеризується активацією субпопуляцій M1 і M2, що дає можливість розробки ефективних методів лікування на основі моделювання поляризаційного їх статусу.

Зауваження та запитання щодо змісту та оформлення дисертаційної роботи:

Вагомих недоліків дана робота не містить, але у результаті ознайомлення з роботою виникли питання дискусійного характеру:

1. Чи селективно трипторелін блокує лютеїнізуючий гормон?
2. Чи в нього є інші впливи на ендокринну систему?

Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи

Вважаю, що дисертаційна робота «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів» подана на здобуття ступеня доктора філософії, є завершеною науковою працею, що виконана дисертантом особисто, має значну наукову новизну, теоретичне та практичне значення. Аспірант вдало досягнула мети дослідження, виконала всі задачі дослідження та зробила відповідні висновки. Загальна оцінка дисертації – позитивна.

Основні наукові результати дисертаційного дослідження висвітлені в достатній кількості наукових публікацій, які повністю розкривають зміст дисертації.

Дисертаційна робота Ворошилової Тетяни Анатоліївни «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», за актуальністю обраної теми, методичним рівнем виконання, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів для медицини повністю відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої

освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, актуальним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом № 40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. (редакція від 12.07.2019р.) може бути представлена до офіційного захисту в разовій спеціалізованій раді на присудження ступеня доктор філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний рецензент

професор кафедри патологічної анатомії

та судової медицини

Полтавського державного

медичного університету,

д.мед.н., професор

Іван Старченко