

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ВОРОШИЛОВА ТЕТЯНА АНАТОЛІВНА

УДК 616.127:612.08:599.323.41

ДИСЕРТАЦІЯ

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ
КОМПОНЕНТІВ ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ПРИ ЦЕНТРАЛЬНОМУ
БЛОКУВАННІ СИНТЕЗУ ГОНАДОТРОПІНА ТА ВВЕДЕННІ
КВЕРЦЕТИНУ У ЩУРІВ

222 – «Медицина»

22 – «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Т.А. Ворошилова (підпис)

Науковий керівник: Шепітько Володимир Іванович,
доктор медичних наук, професор

Полтава – 2025

АНОТАЦІЯ
ВОРОШИЛОВА Т. А. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА
ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ
ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ПРИ ЦЕНТРАЛЬНОМУ БЛОКУВАННІ
СИНТЕЗУ ГОНАДОТРОПІНА ТА ВВЕДЕННІ КВЕРЦЕТИНУ У
ЩУРІВ

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 22 – «Охорона здоров'я», 222 – «Медицина». – Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, 2025.

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я, протягом кількох останніх років 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.

Простір між кардіоміоцитами міокарда шлуночків, ще називається інтерстицій міокарда шлуночків (ІМШ) вповнений пухкою волокнистою сполучною тканиною (ПВСТ). Міжклітинна речовина забезпечує формування середовища для нормального функціонування робочих компонентів міокарда, до якого належить гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР), що включає мережу артеріол, капілярів і венул. Судини 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 мають величезну актуальність у сучасній медицині з кількох причин. 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.

Препарати на основі триптореліна 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. Недостатність тестостерону супроводжується розвитком оксидативного стресу в різних органах та тканинах, в тому числі і в серцевому м'язі. Розвиток оксидативного стресу за умов недостатності тестостерону також супроводжується апоптозом, що є особливо небезпечним для високодиференційованих та спеціалізованих клітин міокарду.

Тестостерон має здатність стимулювати зміну поляризації макрофагів тканини в сторону переважання поляризації за M2-фенотипом (протизапальний фенотип), тому за умов дефіциту тестостерону спостерігається переважання поляризації макрофагів за M1-фенотипом (прозапальний фенотип). Макрофаги тканини поляризовані за M1-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.

Кверцетин має потужні антиоксидантні властивості. Окрім прямої нейтралізації вільних радикалів шляхом їх поглинання, кверцетин також знижує продукцію активних форм кисню та має відчутний регуляторний вплив на редокс-чутливі транскрипційні фактори. Кверцетин здатен знижувати активність індукбельної ізоформи NO-синтази. Цей ефект також може бути пов'язаний із його здатністю регулювати поляризацію макрофагів тканин, спрямовуючи її у бік переважання M2-фенотипу.

Каспаза-3 є одним із членів сімейства каспаз (цистеїн-аспарагінових протеаз), які є протеолітичними ферментами, відомими своєю ключовою роллю в апоптозі та контролі запалення. Каспаза-3 працює селективно в тканинах і сприяє апоптозу, що дозволяє вважати цей фермент одним із найважливіших учасників запрограмованої клітинної загибелі.

Таким чином, дослідження ГМЦР у ІМШ відіграють ключову роль допомагаючи підвищити ефективність лікування серцево-судинних захворювань та покращити прогнози для пацієнтів. Кверцетин, 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 функціонування циклу оксиду азоту в серці щурів.

Враховуючи все сказане вище, метою роботи було встановлення змін структурних компонентів ІМШ при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та корекції цього стану введенням кверцетину.

Для досягнення мети нами було поставлено 5 завдань:

1. Встановити закономірності реакції ланок ГМЦР ІМШ при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та введенні кверцетину.

2. Вивчити зміни в поляризації M1/M2-макрофагів серця при довготривалому блокуванні рилізінг гормону триптореліном у щурів та при введенні кверцетину

3. Дослідити розвиток оксидативного ушкодження тканин серця за умов введення триптореліну та триптореліну і кверцетину.

4. Показати динаміку впливу триптореліну та триптореліну і кверцетину на ферменти циклу оксиду азоту в інтерстиції міокарда шлуночків.

5. З'ясувати вплив пригнічення синтезу тестостерону на активність каспази-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні рилізінг гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину.

У роботі використані наступні методи досліджень:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах;
- загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації інтерстицію міокарда шлуночків, а саме ГМЦР та сполучнотканинного 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 рилізінг гормону у щурів на тлі введення кверцетину;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

Для вирішення поставлених завдань у роботу було включено 60 дорослих самців білих щурів масою (180-250) г. При відборі тварин ми враховували те, що білі щури є найбільш вірогідним об'єктом для групового експерименту, на яких можливо отримати однотипні зміни. Вони були

розподілені на три групи: I група – контроль, яким вводили фізіологічний розчин (n=10); II група – тварини, яким вводився розчин триптореліну (n=25); III група – тварини, яким на тлі введеного триптореліну, вводився кверцетин (n=25). При проведенні досліджень дотримувались міжнародних правил та принципів Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та Закону України №3447 “Про захист тварин від жорстокого поводження” IV від 21.02.2006 р. Тварин усіх груп утримували на загальноприйнятому раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. При щоденному огляді контролювали загальний стан, ступінь прояву місцевих змін, масу тіла і летальність білих щурів. Експеримент та відбір тварин проводили поетапно. Спочатку тварини були оглянуті: враховували стан шкіри, рухову активність та витримували тиждень в карантині до початку експерименту. Далі визначали інтактні рівні досліджуваних показників та вибраковували тварин з показниками, що різко відрізнялись. Для виключення впливу на експеримент добових та сезонних ритмів біологічної активності, досліди проводились демісезонно, завжди в ранковий час через 16 годин після останнього годування.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у встановленні особливостей реакції структурних компонентів інтерстицію міокарда шлуночків (ІМШ) при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та корекції цього стану введенням кверцетину.

У контрольній групі ІМШ представлений ПВСТ, яка має сполучно-тканинний і клітинний компоненти, а саме: сполучно-тканинний компонент представлений колагеновими і еластичними волокнами з судинами, клітинні компоненти представлені резидентними (фібробластами, міофібробластами, ліпоцитами) та мігруючими (макрофагами, тканинними базофілами)

клітинами, які формують мікрооточення для кардіоміоцита, що забезпечує гомеостаз останнього.

ГМЦР ІМШ у контрольній групі представлено артеріолярною з середнім діаметром 37.96 ± 1.02 мкм, капілярною – 12.37 ± 0.33 мкм та венулярною – 48.03 ± 1.34 мкм ланками. Артеріолярна та венулярна ланки знаходились у перимізії ІМШ, у той час як капілярна ланка – в ендомізії.

Реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшення кровонаповнення максимумом якого становить на 6 місяць експерименту (у групі з введенням триптореліну для артеріол – $76,91 \pm 2,93$ та венул $82,23 \pm 3,09$ мкм; у групі з додаванням кверцетину – для артеріол середній діаметр становив – $89,91 \pm 3,03$, венул – $90,05 \pm 3,74$ мкм без порушення відтоку). Максимальний діаметр капілярної ланки визначався також у цей термін і в середньому становив $20,01 \pm 3,41$ мкм – при введенні триптореліну, а при введенні триптореліну і кверцетину – $19,21 \pm 1,05$ мкм.

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. 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 місяць та 3 місяці) супроводжуються зниженням продукції оксиду азоту, 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 ($p < 0.05$). Кверцетин 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 при введенні триптореліну.

Введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця за CD68⁺ та CD163⁺ експресією. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпрезентуючих клітин, який характеризується змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2. Їх кількісне співвідношення має значення не тільки для розуміння функціонування цих клітин, а й для розробки ефективних методів лікування на основі моделювання їх поляризаційного статусу.

Активність каспази-3, при введенні триптореліна і кверцетина, зберігала основну закономірність (різке підвищення на 1 місяць, а потім поступовий спад до 12 місяця), але достовірність зменшення кількісного параметра суттєва лише на 1 та 3 місяці дослідження. Додавання до раціону харчування кверцетину призводить до зменшення імунореактивності клітин ІМШ за експресією каспази-3, що можна розцінювати як явище компенсаторне, спрямоване на збалансованість апоптозу в умовах гормональної дисфункції по пригніченню синтезу тестостерону.

Введення триптореліну призводило до виникнення колагенозу, розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), фіброзу, активації макрофагів та тканинних базофілів по типу асептичного запалення в ІМШ з явними проявами морфологічних ознак на 3–12 місяці дослідження.

Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень ГМЦР міокарда при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-серце». Дані про функціональну морфологію серця на етапах адаптації до змін ендокринної ланки розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу серця.

Кверцетин 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.

Наукова новизна дослідження.

Вперше показано, що введення триптореліну призводило до виникнення колагенозу, розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), фіброзу, 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 кверцетину.

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 відтоку в групі з додаванням кверцетину.

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 доведено, що введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпрезентуючих клітин, що характеризується змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2.

Практичне значення результатів дослідження.

Доведено, що водорозчинна форма кверцетину 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 індукцйбельної ізоформи NO-синтази.

Кверцетин 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 в ПВСТ, характеризується активацією субпопуляцій макрофагів M1 і M2, що може сприяти розробці ефективних методів лікування базованих на моделюванні їх поляризаційного статусу.

Впровадження результатів дослідження.

Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри анатомії Одеського національного медичного університету.

Структура 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.

Ключові слова: серце, морфологічні зміни, судинна стінка, венули, мікроциркуляторне русло, оксидативний стрес, NO-синтаза, поляризація макрофагів, M1 та M2 макрофаги, трипторелін, кверцетин, гормональна дизрегуляція, CD 68+, CD 163+, щури.

ANNOTATION

VOROSHYLOVA T.A.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE STRUCTURAL COMPONENTS OF MYOCARDIAL INTERSTITIUM DURING CENTRAL BLOCKAGE OF GONADOTROPIN SYNTHESIS AND ADMINISTRATION OF QUERCETIN IN RATS

Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 22 – “Health Care”, 222 – “Medicine”. – Poltava State Medical University, Poltava, 2025.

According to the estimates of the World Health Organization, during the last few years, about a third of all deaths in the world are caused by cardiovascular diseases. Disability and mortality in these diseases, among a socially significant age group of the population, is a serious problem.

The space between the cardiomyocytes of the ventricular myocardium, also called the interstitium of the ventricular myocardium (VMI), is filled with loose fibrous connective tissue (LFCT). The intercellular substance provides an environment for the normal functioning of the myocardium's working components, including the hemomicrocirculatory bed (HMB), which includes a network of arterioles, capillaries and venules. In the VMI, HMB penetrates deep into the connective tissue of the myocardium and supplies blood to each cell in this area of the heart muscle. This process is vital for the normal functioning of the heart because, without a sufficient supply of oxygen and nutrients, the myocardial cells cannot effectively perform their functions.

The research on HMB in VM is very relevant in modern medicine for several reasons. Firstly, it's understanding pathological processes, such as ischemia, hypoxia, and myocardial remodeling, which allows for more effective methods of diagnosing and treating cardiovascular diseases. Secondly, it is an assessment of the effectiveness of treatment (medication therapy), as well as methods of rehabilitation after heart operations or myocardial infarction. Thirdly,

new technologies and methods of visualization of microvessels have been developed, which contribute to the improvement of diagnostics and surgical interventions. And finally, the last thing is the prediction of complications. Research on HMB allows for identifying risk factors for developing complications in cardiovascular diseases and taking measures for their prevention.

Preparations based on triptorelin lead to disruption of the synthesis of luteinizing hormone and inhibition of testosterone production. This fact is of particular importance in the treatment of oncological pathology, in particular, such as prostate cancer. In turn, testosterone plays an essential role in the functioning of the cardiovascular system, and its deficiency leads to an increased risk of cardiovascular mortality. Testosterone deficiency is accompanied by the development of oxidative stress in various organs and tissues, including the heart muscle. In addition to oxidative stress, myofibrils and mitochondria are damaged. Oxidative stress, which develops under testosterone deficiency conditions, is also accompanied by apoptosis, which is especially dangerous for the highly differentiated and specialized myocardium cells.

Testosterone can stimulate a change in the polarization of tissue macrophages towards the predominance of polarization according to the M2-phenotype (anti-inflammatory phenotype). Therefore, under conditions of testosterone deficiency, there is a predominance of polarization of macrophages according to the M1-phenotype (pro-inflammatory phenotype). Tissue macrophages polarized by the M1 phenotype are a potent source of reactive oxygen species and other free radicals. This may explain our study's baseline increase in superoxide anion radical production observed with triptorelin administration. High concentrations of luteinizing hormone can inhibit the synthesis of nitric oxide from NO synthases, so reducing their concentration under the influence of triptorelin should increase their production.

Quercetin has powerful antioxidant properties. In addition to directly neutralizing free radicals through their absorption, quercetin reduces the production of reactive oxygen species and has a powerful regulatory effect on

redox-sensitive transcription factors. Quercetin can reduce the activity of the inducible isoform of NO-synthase. The inhibitory effect of quercetin may also be related to its ability to regulate the polarization of tissue macrophages, directing it toward the predominance of the M2 phenotype.

Caspase-3 is a member of the family of caspases (cysteine-aspartic proteases), proteolytic enzymes known for their key roles in apoptosis and inflammation control. Caspase-3 works selectively in tissues and promotes apoptosis, making this enzyme one of the most essential participants in programmed cell death.

Thus, HMB studies at the VMI play a key role in improving the effectiveness of cardiovascular disease treatment and patient outcomes. Quercetin without affecting the pharmacological properties of triptorelin, when used in combination, effectively neutralizes triptorelin-induced oxidative stress in the heart of rats by reducing the production of reactive oxygen species, a direct antioxidant effect, and the functioning of the nitric oxide cycle in the heart of rats.

Considering all the above, the aim of the work was to identify changes in the structural components of VMI caused by triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correcting this condition by introducing quercetin.

To achieve this goal, we set 5 tasks:

6. To establish the patterns of response of the HMB elements of the VMI in the case of triptorelin-induced central deprivation of luteinising hormone synthesis and quercetin administration
7. To determine changes in the polarisation of cardiac M1/M2 macrophages after long-term blocking of the releasing hormone by triptorelin in rats and following quercetin administration.
8. To investigate the development of oxidative damage of cardiac tissues under conditions of administration of triptorelin as well as triptorelin and quercetin.

9. To demonstrate the dynamics of the triptorelin and triptorelin with quercetin effect on nitric oxide cycle enzymes in the ventricular myocardial interstitium.

10. To define the effect of testosterone synthesis inhibition on caspase-3 activity in the VMI tissues during long-term blocking of the releasing hormone in male rats following quercetin administration.

The following research methods were used in the study:

- experimental method – research was conducted in artificially created conditions;
- general histological methods – to establish the regularities of the spatial organization of the interstitium of the ventricular myocardium, namely the HMB as well as connective tissue and cellular components;
- biochemical methods – to determine the effect of the water-soluble form of quercetin on metabolic changes in the heart of rats under conditions of long-term blockade of the synthesis of luteinizing hormone by triptorelin;
- immunohistochemical – to show changes in the polarization of M1/M2-macrophages of VMI with long-term blocking of releasing hormone in rats against the background of quercetin administration;
- statistical processing of research results using a computer application program package.

To solve the set tasks, 60 adult male white rats weighing (180-250) g were included in the study. When selecting animals, we considered white rats the most likely subjects for a group experiment and could undergo the same type of changes. They were divided into three groups: Group I – control, rats were injected with a physiological solution (n=10); Group II – animals were injected with triptorelin solution (n=25); Group III – animals received quercetin on the background of triptorelin (n=25). When conducting research, the international rules and principles of the European Convention "On the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments and Other Scientific Purposes" (Strasbourg, 1986),

the General Ethical Principles of Animal Experiments" (Kyiv, 2001), and Law of Ukraine No. 3447, "On the protection of animals from cruel treatment" IV, dated February 21, 2006, were observed. Animals of all groups were kept on the generally accepted ration of the Poltava State Medical University vivarium. The general condition, degree of local changes, body weight, and lethality of white rats were monitored during the daily examination. The experiment and selection of animals were carried out in stages. First, the animals were examined, and the condition of their skin and motor activity were taken into account. They were then kept in quarantine for a week before the start of the experiment. Next, the intact levels of the studied parameters were determined, and animals with dramatically different parameters were culled. To exclude the influence of daily and seasonal rhythms of biological activity on the experiment, the experiments were conducted demi-seasonally, always in the morning, 16 hours after the last feeding.

The dissertation provides a theoretical generalization and a new solution to the scientific task of establishing the specifics of the reaction of the structural components of the ventricular myocardium interstitium during triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and the correction of this condition by quercetin administration.

In the control group, VMI is represented by LFCT, which has connective tissue and cellular components. Collagen and elastic fibers with vessels define the connective tissue component, while the cellular components are represented by resident (fibroblasts, myofibroblasts, lipocytes) and migrating (macrophages, tissue basophils) cells. These cells form a microenvironment for the cardiomyocyte, which ensures its homeostasis.

HMB of VMI in the control group was represented by arteriolar links with an average diameter of $37.96 \pm 1.02 \mu\text{m}$, capillary links – $12.37 \pm 0.33 \mu\text{m}$, and venular links – $48.03 \pm 1.34 \mu\text{m}$. The arteriolar and venular links were located in the perimysium of the VMI, while the capillary link was located in the endomysium.

The response of HMB of VMI to triptorelin administration is characterized by changes in the morphometric parameter of the diameter of arterial and venous

links with a gradual increase in blood filling, the maximum of which is at the 6th months of the experiment (for arterioles – 76.91 ± 2.93 and venules 82.23 ± 3.09 μm in the group with the triptorelin administration; and in the group with the addition of quercetin – for arterioles, the average diameter was 89.91 ± 3.03 and venules – 90.05 ± 3.74 μm without violation of the outflow). The maximum diameter of the capillary link was also detected during this period. It was, on average, 20.01 ± 3.41 μm when triptorelin was administered and 19.21 ± 1.05 μm when triptorelin and quercetin were administered.

The administration of triptorelin to block the synthesis of luteinizing hormone leads to the development of oxidative stress in rats' hearts. This results in impaired antioxidant protection and excessive formation of reactive oxygen species at all experiment stages. The water-soluble form of quercetin (corvutin) is an effective remedy for correcting triptorelin-induced excessive production of reactive oxygen species and oxidative damage to heart tissues throughout the experiment.

The first periods of blocking the synthesis of luteinizing hormone with triptorelin (1 month and 3 months) are accompanied by a decrease in nitric oxide production, which threatens the development of ischemic damage to the myocardium. From the 6th month of blockade of the synthesis of luteinizing hormone with triptorelin, excessive production of nitric oxide is observed in the heart of rats due to an increase in the activity of the inducible isoform of NO-synthase ($p < 0.05$). Quercetin effectively reduces the excessive production of nitric oxide in rats' hearts, as observed from the sixth month of the experiment. It does not cause hypoxic damage to the myocardium, as evidenced by a decrease in malondialdehyde content at all stages during the experiment compared to the indicators of the group with the introduction of triptorelin.

The administration of triptorelin causes quantitative and qualitative changes in the macrophage population, with CD68+ and CD163+ expression in the heart's interstitial space. The addition of quercetin disrupts the landscape of antigen-presenting cells, characterized by changes in the M1 and M2 macrophage subpopulations. Their quantitative ratio indicates the importance of understanding

these cells' functioning and developing effective treatments based on modeling their polarization status.

Caspase-3 activity, when triptorelin and quercetin were administered, maintained the essential regularity (a sharp increase for 1 month and then a gradual decline until 12 months). Still, the reliability of the decrease in the quantitative parameter is significant only for 1 and 3 months of the study. Adding quercetin to the diet leads to a reduction in the immunoreactivity of VMI cells by the expression of caspase-3, which can be considered a compensatory phenomenon aimed at balancing apoptosis in conditions of hormonal dysfunction due to inhibition of testosterone synthesis.

The administration of triptorelin led to the appearance of collagenosis, expansion of LFCT layers (endomysium and perimysium), fibrosis, and activation of macrophages and tissue basophils by the type of aseptic inflammation in VMI, with apparent manifestations of morphological features at 3-12 months of the study.

Our results are a theoretical justification for developing methods for correcting violations of the myocardial HMB in the case of a pathological effect on the body of a dyshormonal state of central genesis: "hypothalamus-pituitary-testis-heart." Data on the functional morphology of the heart at the stages of adaptation to changes in the endocrine link expand the existing ideas about the causes of heart homeostasis disturbances.

Quercetin effectively reduces the excessive production of nitric oxide in rats' hearts, as observed from the sixth month of the experiment. It does not cause hypoxic damage to the myocardium, as evidenced by a decrease in malondialdehyde content at all stages during the experiment compared to the indicators of the group with the introduction of triptorelin.

The scientific novelty of the study.

First, it was shown that the administration of triptorelin led to the appearance of collagenosis, expansion of LFCT layers (endomysium and perimysium), fibrosis, and activation of macrophages and tissue basophils by the aseptic

inflammation type in VMI with obvious morphological signs at 3-12 months of the study and correction of this condition by quercetin administration.

For the first time, it was established that changes in the morphometric parameter of the diameter of the arterial and venous links, along with a gradual increase in blood filling, characterize the reaction of the HMB of VMI to the administration of triptorelin. This is most reliably manifested in the sixth month of the experiment in both experimental groups but without outflow disorders in the group with the addition of quercetin.

Our results are a theoretical justification for developing methods for correcting violations of the myocardial HMB in the case of a pathological effect on the body of a dyshormonal state of central genesis: "hypothalamus-pituitary-testis-heart."

For the first time, it was shown that the administration of triptorelin to block the synthesis of luteinizing hormone leads to the development of oxidative stress in the hearts of rats. This is due to the violation of antioxidant protection and the excessive formation of reactive oxygen species throughout the experiment. The administration of quercetin corrected this condition.

Firstly, it was proved that the administration of triptorelin causes quantitative and qualitative changes in the population of macrophages in the heart's interstitial space. The addition of quercetin disrupts the landscape of antigen-presenting cells, characterized by changes in the M1 and M2 macrophage subpopulations. Their quantitative ratio indicates the importance of understanding these cells' functioning and developing effective treatments based on modeling their polarization status.

Practical significance of the research results.

Throughout the experiment, the water-soluble form of quercetin was proven to be an effective remedy for correcting triptorelin-induced excessive production of reactive oxygen species and oxidative damage to heart tissues.

The first periods of blocking the synthesis of luteinizing hormone with triptorelin (1 month and 3 months) are accompanied by a decrease in nitric oxide

production in the rat's heart, threatening the development of ischemic damage to the myocardium. From the 6th month of blockade of the synthesis of luteinizing hormone with triptorelin, excessive nitric oxide production is observed in rats' hearts due to increased activity of the inducible isoform of NO-synthase.

Quercetin effectively reduces the excessive production of nitric oxide in rats' hearts, as observed from the sixth month of the experiment. It does not cause hypoxic damage to the myocardium, as evidenced by a decrease in malondialdehyde content at all stages during the experiment compared to the indicators of the group with the introduction of triptorelin.

VMI, when quercetin is administered as a corrector of aseptic inflammation in LFCT, is characterized by activation of M1 and M2 subpopulations, which makes it possible to develop effective treatment methods based on modeling their polarization status.

Implementation of research results.

The results obtained in the dissertation are implemented in the research and educational process of the Departments of Histology, Cytology, and Embryology of the Poltava State Medical University, Department of Histology and Embryology of the Ternopil Gorbachevsky National Medical University, Department of Histology and Embryology of the Bogomolets National Medical University, Department of Histology, Cytology and Embryology of the Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Anatomy of the Odesa National Medical University.

Structure and scope of the dissertation.

The dissertation is 195 pages long and consists of the following sections: an abstract, an introduction, a literature review, materials and methods, three sections of the author's research results, an analysis and generalization of the research results, conclusions, practical recommendations, a list of references, and appendices. The list of used references includes 249 names, of which are placed on 36 pages. The work is illustrated with 41 figures, 54 microphotographs, and 5 tables.

Key words: heart, morphological changes, vascular wall, venules, microcirculatory bed, oxidative stress, NO synthase, macrophage polarization, M1 and M2 macrophages, triptorelin, quercetin, hormonal dysregulation, CD 68+, CD 163+, rats.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙОЇ РОБОТИ:

Статті:

1. Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Akimov OYe, Puzyryov GS. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *World of Medicine and Biology*. 2022; 79(1): 179-183. Doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183. (**Web of Scienic**) *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

2. Voroshilova, T. A., Shepitko, V. I., Stetsuk, Y. V., Vilkhova, O. V., & Puzyryov, G. S. (2024). Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of quercetin. *Reports of Morphology*, 30(3), 91-98. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-09) (**Scopus**) *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

3. Ворошилова Т, Шепітько В, Стецук Є. Активність каспаза-3 в тканинах інтерстицію міокарда шлуночків при довготривалому блокуванні рилізінг-гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину. *Act. Probl. of the Modern Med.* [інтернет]. 26, Грудень 2024;24(4):194-00. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.4.194> *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

4. Voroshylova T, Shepitko V, Stetsuk Y, Boruta N, Vilkhova O, Rud M, Puzyryov G, Sych O, Miahkokhlib A. The impact of prolonged blockade of the releasing hormone on alterations in cardiac macrophage polarisation subsequent to

quercetin administration in rats. *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal* [Internet]. 2025 Jan. 4 ;20(8):633-8. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.8.2024.1471> (Scopus) *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

Тези, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Ворошилова Т. А. Характеристика тканинних макрофагів інтерстиційного простору серця при стрес індукованому порушенні синтезу лютеїнізуючого гормону введенням триптореліну у щурів / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 16–18. *(Дисертантці належать результати щодо ролі макрофагів у сполучній тканині при введенні триптореліну).*

6. Ворошилова Т. А. Характеристика гемомікроциркуляторного русла міокарду шлуночків серця при введенні триптореліну / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18-19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 10–11. *(Здобувачці належать результати щодо ролі гемомікроциркуляторного русла в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину як засобу патогенетичної терапії).*

7. Ворошилова Т. Реакція мастоцитів сполучної тканини міокарда шлуночків при введенні триптореліну / Т. Ворошилова, В. Шепітько, Є. Стецук // Матеріали Всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфології», присвяч. 100-річчю від д. н. проф. Лева Михайловича Личковського, м. Львів, 17 травня 2024 р. – Львів, 2024. – С. 150–151. *(Здобувачці належать результати щодо ролі тканинних базофілів в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину).*

8. Ворошилова Т. Шепітько В, Стецук Є. Вплив тривалого застосування триптореліну на цикл оксиду азоту та ARG, як маркерів макрофагів M1 та M2 в інтерстиції міокарда шлуночків. Всеукраїнська наукова конференція «Клінічна анатомія та патологічна фізіологія: значущість для формування клінічного мислення майбутнього лікаря»; 4 жовт. 2024; Одеса. Одеса. Одеський національний медичний університет; 2024. с. 39-40. *(Здобувачці належать результати щодо ролі макрофагів в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ANNOTATION	12
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙОЇ РОБОТИ	22
ЗМІСТ	25
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	28
ВСТУП	29
РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ШЛУНОЧКІВ У НОРМІ, ПРИ ДЕПРИВАЦІЇ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	39
1.1. Загальна характеристика сполучнотканинного простору міокарда в нормі та при серцевій недостатності	39
1.2. Вплив пригнічення синтезу гонадотропін-рилізінг гормону на функціонування та структурну організацію міокарда шлуночків	47
1.3. Ефект використання кверцетину при ряді патологічних станів	53
1.4. Резюме	59
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
2.1. Матеріал дослідження	61
2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування	62
2.2.1. Модель експерименту	63
2.2.2. Гістологічне дослідження інтерстицію міокарду шлуночків білих щурів	64
2.2.3. Біохімічні методи дослідження	65
2.2.4. Імуногістохімічний метод дослідження міокарду шлуночків	68
2.2.5. Морфометрія препаратів міокарду шлуночків білих щурів	70
2.2.6. Статистичне обробка результатів дослідження ..	70
РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ШЛУНОЧКІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ТА КОРЕКЦІЇ СТАНУ ВВЕДЕННЯМ КВЕРЦЕТИНУ У ЩУРІВ	72
3.1. Характеристика ІМШ у контрольній групі щурів ...	72
3.2. Реакція структурних компонентів ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином у щурів ...	77
3.2.1. Характеристика сполучно-тканинного компонента ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином	77
3.2.2. Характеристика клітинного компонента ІМШ при	

	введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином ...	84
	3.3.Характеристика ГМЦР ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином	87
	3.4. Резюме	92
РОЗДІЛ 4.	ВПЛИВ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ КВЕРЦЕТИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СЕРЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ	95
	4.1. Вплив водорозчинної форми кверцетину на продукцію супероксидного аніон-радикалу в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном	95
	4.2. Вплив водорозчинної форми кверцетину на активність антиоксидантних ферментів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном	100
	4.3. Вплив водорозчинної форми кверцетину на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном	107
	4.4. Вплив водорозчинної форми кверцетину на активність ферментів циклу оксиду азоту в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном	110
	4.5. Резюме	124
РОЗДІЛ 5.	ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОГО БЛОКУВАННЯ РЕЛІЗІНГГОРМОНУ НА ЗМІНИ В ПОЛЯРІЗАЦІЇ МАКРОФАГІВ СЕРЦЯ НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ У ЩУРІВ	126
	5.1. Характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну	126
	5.2. Характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну і кверцетину	129
	5.3. Характеристика кількісного показника активності каспаза-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів самців та введенні кверцетину	131
	5.4. Резюме	134
РОЗДІЛ 6	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	136

6.1. Механізми впливу триптореліну та триптореліну і кверцетину на гемомікроциркуляторне русло міокарда шлуночків	136
6.2. Механізми впливу триптореліну та триптреліну з кверцетином на біохімічні показники в ІМШ у щурів.....	140
6.3. Механізми впливу довготривалого блокування рилізінг-гормону на зміни в поляризації макрофагів, активності каспази-3 в ІМШ на тлі введення кверцетину у щурів	145
ВИСНОВКИ	150
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	153
ДОДАТКИ	188

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

вКВЕ – водорозчинна форма кверцетину (Корвітин);

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло;

ЕВ – еластичні волокна;

ІМШ – інтерстицій міокарда шлуночків;

КВ – колагенові волокна;

М – макрофг;

М1 – прозапальний макрофаг;

М2 – протизапальний макрофаг;

МДА – малоновий діальдегід;

мтСАР – мітохондріальний супероксидний аніон-радикал;

МФБ – міофібробласт;

ПВСТ – пухка волокниста сполучна тканина;

САР – супероксидний аніон-радикал;

СОД – супероксид дисмутаза;

СТК – сполучно-тканинний компонент;

ТБ – тканинний базофіл (тучна клітина);

ФБ – фібробласт;

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я протягом кількох останніх років близько третини всіх випадків смерті у світі припадає на серцево-судинну патологію. Інвалідизація та смертність при цих захворюваннях серед соціально значущої вікової групи населення є серйозною проблемою.

Простір між кардіоміоцитами шлуночків виповнений складноструктурованими взаємозалежними елементами, які інтегрують компоненти скоротливого міокарда, живлять його та координують роботу м'язових волокон. Міжклітинна речовина забезпечує формування середовища для нормального функціонування робочих компонентів міокарда, до яких належить гемомікроциркуляторне русло (ГМЦР), що включає мережу артеріол, капілярів і венул [1,2,3,4]. Судини ГМЦР, в інтерстиції міокарда шлуночків (ІМШ), проникають углиб 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 мають величезну актуальність у сучасній медицині з кількох причин. 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 операцій на серці 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.

Таким чином, дослідження ГМЦР у сполучній тканині міокарда шлуночків відіграють ключову роль допомагаючи підвищити ефективність лікування серцево-судинних захворювань та покращити прогнози для пацієнтів.

Препарати на основі триптореліна 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 [5,6]. В свою чергу тестостерон відіграє важливу роль у функціонуванні серцево-судинної системи, а його дефіцит призводить до підвищення ризику серцево-судинної смертності [7,8]. Недостатність тестостерону супроводжується розвитком оксидативного стресу в різних органах та тканинах, в тому числі і в серцевому м'язі [9,10]. Розвиток оксидативного стресу за умов недостатності тестостерону також супроводжується апоптозом, що є особливо небезпечним для високодиференційованих та спеціалізованих клітин міокарду [11,12].

Тестостерон має здатність стимулювати зміну поляризації макрофагів тканини в сторону переважання M2-фенотипу (протизапальний фенотип), тому за умов дефіциту тестостерону спостерігається поляризація макрофагів за M1-фенотипом (прозапальний фенотип) [13]. Макрофаги тканини поляризовані за M1-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 [14]. Високі концентрації лютеїнізуючого гормону мають здатність інгібувати синтез оксиду азоту від NO-синтаз, тому зниження його концентрації під впливом триптореліну має підвищувати його продукцію [15].

Кверцетин має потужні антиоксидантні властивості. Його антиоксидантна дія може полягати у прямому «поглинанні» вільних радикалів фенольними кільцями [16, 17]. Окрім прямої нейтралізації вільних радикалів шляхом їх поглинання кверцетин також знижує продукцію

активних форм кисню [18, 19]. Також окрім прямого впливу на продукцію та утилізацію вільних радикалів він має потужний регуляторний вплив на редокс-чутливі транскрипційні фактори [20, 21].

Кверцетин здатен знижувати активність індукцйбельної ізоформи NO-синтази [22, 23]. Цей ефект також може бути пов'язаний із його здатністю регулювати поляризацію макрофагів тканин, спрямовуючи її у бік переважання M2-фенотипу. [23, 24]. Це може пояснити його активуючу властивість стосовно аргіназу у серці щурів, які також отримують додатковий субстрат внаслідок інгібування індукцйбельної ізоформи NO-синтази кверцетином.

Таким чином, водорозчинна форма кверцетину, 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 функціонування циклу оксиду азоту в серці щурів.

Каспаза-3 є одним із членів сімейства каспаз (цистеїн-аспарагінових протеаз), які є протеолітичними ферментами, відомими своєю ключовою роллю в апоптозі та контролі запалення [1,2,3]. Каспаза-3 працює селективно в тканинах і сприяє апоптозу, що дозволяє вважати цей фермент одним із найважливіших учасників запрограмованої клітинної загибелі [4,5,6].

Враховуючи все сказане вище, актуальним є комплексний підхід до вивчення наслідків тривалого дефіциту тестостерону, викликаного центральною депривацією синтезу лютеїнізуючого гормону, що можуть призвести до змін ГМЦР в ІМШ, проявлення наслідків оксидативного стресу та активації дії макрофагів (M1 і M2), активації ферменту каспаза-3.

Зв'язок з науковими програмами, планами, 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.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи Метою даного дослідження є встановлення змін структурних компонентів ІМШ при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та корекції цього стану введенням кверцетину.

Завдання дослідження:

1. Встановити закономірності реакції ланок ГМЦР ІМШ при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та введенні кверцетину.
2. Вивчити зміни в поляризації M1/M2-макрофагів серця при довготривалому блокуванні рилізінг гормону триптореліном у щурів та при введенні кверцетину
3. Дослідити розвиток оксидативного ушкодження тканин серця за умов введення триптореліну та триптореліну і кверцетину.
4. Показати динаміку впливу триптореліну та триптореліну і кверцетину на ферменти циклу оксиду азоту в інтерстиції міокарда шлуночків.
5. З'ясувати вплив пригнічення синтезу тестостерону на активність каспази-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні рилізінг гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину.

Об'єкт дослідження: морфологічні та функціональні зміни стану структурних компонентів ІМШ при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та корекції цього стану введенням кверцетину.

Предмет дослідження: реакція ланок ГМЦР на введення триптореліну та триптореліну і кверцетину; розвиток оксидативного ушкодження тканин серця; динаміка впливу триптореліну та триптореліну і кверцетину на

ферменти циклу оксиду азоту в ІМШ за умов введення триптореліну та триптореліну і кверцетину; CD68 та CD163, що забезпечують поляризацію макрофагів M1 і M2.

Методи дослідження. У роботі використані наступні методи досліджень:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах;
- загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації інтерстицію міокарда шлуночків, а саме ГМЦР, 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 рилізінг гормону у щурів на тлі введення кверцетину;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

Наукова новизна дослідження.

Вперше показано, що введення триптореліну призводило до виникнення колагенозу, розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), фіброзу, 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 відтоку в групі з додаванням кверцетину.

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 доведено, що введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпрезентуючих клітин, що характеризується змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2.

Практичне значення результатів дослідження.

Доведено, що водорозчинна форма кверцетину 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 індукцйбельної ізоформи NO-синтази.

Кверцетин 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 в ПВСТ, характеризується активацією субпопуляцій макрофагів М1 і М2, що може сприяти розробці ефективних методів лікування базованих на моделюванні їх поляризаційного статусу.

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри анатомії Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено інформаційний та патентний пошук, проаналізовано літературу за темою дисертаційної роботи. За участю наукового керівника здобувачем визначено мету й завдання роботи. Автором особисто отримані експериментальні результати, проведено їх аналіз, статистична обробка й зроблені попередні висновки, написано всі розділи дисертації. Автором постійно проводилося обговорення та аналіз результатів спільно з науковим керівником.

Статті: 1. Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Akimov OYe, Puzyryov GS. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *World of Medicine and Biology*. 2022; 79(1): 179-183. Doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183. (**Web of Scienic**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

2. Voroshilova, T. A., Shepitko, V. I., Stetsuk, Y. V., Vilkhova, O. V., & Puzyryov, G. S. (2024). Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of quercetin. *Reports of Morphology*, 30(3), 91-98.

[https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-09) (**Scopus**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

3. Ворошилова Т, Шепітько В, Стецук Є. Активність каспаза-3 в тканинах інтерстицію міокарда шлуночків при довготривалому блокуванні релізінг-гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину. *Act. Probl. of the Modern Med.* [інтернет]. 26, Грудень 2024;24(4):194-00.

<https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.4.194> (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

4. Voroshilova T, Shepitko V, Stetsuk Y, Boruta N, Vilkhova O, Rud M, Puzyryov G, Sych O, Miahkokhlib A. The impact of prolonged blockade of the releasing hormone on alterations in cardiac macrophage polarisation subsequent to quercetin administration in rats. *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal* [Internet]. 2025 Jan. 4 ;20(8):633-8. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.8.2024.1471>

(**Scopus**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

Тези, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Ворошилова Т. А. Характеристика тканинних макрофагів інтерстиційного простору серця при стрес індукованому порушенні синтезу лютеїнізуючого гормону введенням триптореліну у щурів / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С.

16–18. (Дисертантці належать результати щодо ролі макрофагів у сполучній тканині при введенні триптореліну).

6. Ворошилова Т. А. Характеристика гемомікроциркуляторного русла міокарду шлуночків серця при введенні триптореліну / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18-19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 10–11. (Здобувачці належать результати щодо ролі гемомікроциркуляторного русла в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину як засобу патогенетичної терапії).

7. Ворошилова Т. Реакція мастоцитів сполучної тканини міокарда шлуночків при введенні триптореліну / Т. Ворошилова, В. Шепітько, Є. Стецук // Матеріали Всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфології», присвяч. 100-річчю від д. н. проф. Лева Михайловича Личковського, м. Львів, 17 травня 2024 р. – Львів, 2024. – С. 150–151. (Здобувачці належать результати щодо ролі тканинних базофілів в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину).

8. Ворошилова Т. Шепітько В, Стецук Є. Вплив тривалого застосування триптореліну на цикл оксиду азоту та ARG, як маркерів макрофагів M1 та M2 в інтерстиції міокарда шлуночків. Всеукраїнська наукова конференція «Клінічна анатомія та патологічна фізіологія: значущість для формування клінічного мислення майбутнього лікаря»; 4 жовт. 2024; Одеса. Одеса. Одеський національний медичний університет; 2024. с. 39-40. (Здобувачці належать результати щодо ролі макрофагів в інтерстиції міокарда шлуночків при введенні триптореліну та кверцетину).

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи були представлені та обговорені на конференціях:

1. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023.

2. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18-19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024.
3. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфології», присвяч. 100-річчю від д. н. проф. Лева Михайловича Личковського, м. Львів, 17 травня 2024 р. – Львів, 2024.
4. Матеріали Всеукраїнської наукової конференції «Клінічна анатомія та патологічна фізіологія: значущість для формування клінічного мислення майбутнього лікаря», м. Одеса, 4 жовтня 2024 р. – Одеса. 2024.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 8 робіт, з них 4 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 4 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура 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.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ШЛУНОЧКІВ У НОРМІ, ПРИ ДЕПРИВАЦІЇ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КВЕРЦЕТИНУ

(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Загальна характеристика сполучнотканинного простору міокарда в нормі та при серцевій недостатності

Структурна організація серця людини та тварини, на світло- та електроннооптичному рівнях, на сьогоднішній день вивчена досить детально. Але залишається відкритим питання стосовно мікро- та ультраструктури сполучної тканини серця.

Відомо, що серце є непарним м'язовим органом і складається із чотирьох камер. Ці камери мають певні морфологічні та функціональні відмінності та розділені міжпередсердною і міжшлуночковою перегородками. А передсердно-шлуночковий і шлуночково-артеріальний клапани забезпечують односпрямований потік крові [25, 26].

За даними наукових літературних джерел встановлено, що серця людини і щура анатомічно та гістологічно подібні [27, 28, 29].

Як відомо, серце людини і щура має конусоподібну форму та чотири камери. Стінка серця має тришарову будову і складається із ендокарду, міокарду та епікарду. Ззовні серце оточене фіброзною сумкою – перикардом [30, 31].

Ендокард або внутрішня оболонка складається із трьох шарів: ендотеліального, розташованого на товстій базальній мембрані; підендотеліального, який утворений сполучною тканиною із значною кількістю фібробластів та м'язово-еластичного, який містить гладкі міоцити і еластичні волокна [32]. Від міокарда ендокард відділений прошарком пухкої сполучної тканини, так званим субендокардіальним шаром. Для його

мікроструктури характерна наявність товстих колагенових, еластичних та ретикулярних волокон. Також у ньому розміщені дрібні кровonosні судини та волокна Пуркінє, які відносять до провідної системи серця. Ендокард приймає участь в утворенні клапанів серця, які розмежують передсердя і шлуночки.[33].

Наступним шаром серця є міокард, який складається із серцевої м'язової тканини та прошарків пухкої сполучної тканини. За даними деяких авторів [34] виділяють наступні типи клітин: передсерді кардіоміоцити, шлуночкові кардіоміоцити, фібробласти, ендотеліальні клітини, перицити, гладком'язові клітини, імунні клітини (мієлоїдні та лімфоїдні), адипоцити, мезотеліальні клітини та нейральні клітини.

Як відомо, серед м'язових клітин виділяють скоротливі та провідні кардіоміоцити, які контактують між собою за допомогою вставних дисків. Таким чином вони утворюють м'язові волокна, які забезпечують ритмічне скорочення серця. Кожне волокно вкриває сполучна тканина, утворюючи ендомізій [35]. За даними Горбунова А.А., який відтворив тривимірну реконструкцію сполучнотканинного компонента міокарда, було встановлено, що розширення ендомізійу спостерігається в ділянці проходження капілярів і саме тут можна виявити дрібні колагенові волокна і поодинокі тучні клітини. А при вивченні сполучнотканинних прошарків, які оточують пучки кардіоміоцитів, і утворюють так званій перимізій, автор описує наявність товстих колагенових волокон та фібробластоподібних клітин.

При дослідженні структурної організації сполучної тканини міокарда необхідно пам'ятати про позаклітинний матрикс. І саме серцеві фібробласти є основними продуцентами білків для міжклітинної речовини як у нормі, так і під час патологічних змін міокарда [36]. Відомо, що фібробласти здатні реагувати на різні хімічні та механічні подразники. Результатом цього є перебудова позаклітинного матриксу, яка направлена на підтримку нормального функціонування тканини. Але довготривала активація серцевих

фіброblastів може призвести до негативних наслідків: розвитку фіброзу та виникнення серцевої недостатності [37].

Як згадувалось вище, серед клітин сполучнотканинного компоненту міокарда присутні імунні клітини. Активація та зміна кількості саме цих клітин може спричинити прогресування серцевого фіброзу. Так як імунні клітини здатні до вироблення факторів, які прямо чи опосередковано регулюють диференціювання серцевих фіброblastів [38].

Серед імунних клітин, які присутні в міокарді за умов нормального функціонування серця, основною популяцією є макрофаги [39].

Як відомо, макрофаги є «диригентами» імунної відповіді. Вони здатні стимулювати ріст і розмноження лімфоцитів і таким чином приймати участь у формуванні вродженого та набутого імунітету [40].

За даними Міністерства охорони здоров'я України [41] однією із головних причин смертності у всьому світі є серцево-судинні захворювання. В Україні цей показник є одним із найвищих і сягає майже 65% від загальної кількості смертей. Щорічно ми втрачаємо близько 450 тисяч наших громадян.

Клінічною ознакою різних форм серцево-судинних захворювань, таких як атеросклероз, ішемічна хвороба серця, цереброваскулярні захворювання, геморагічний інсульт, гіпертонічна хвороба серця, кардіоміопатія, міокардит, фібриляція передсердь, аневризма аорти, захворювання периферичних судин та ендокардит, є серцева недостатність. І широко відомий той факт, що регенерація тканин серця дорослої людини після пошкодження відбувається погано [42]. Тому розуміння процесів ураження та відновлення тканин серця стало цінним джерелом для нашого дослідження.

Імунна система реалізує захисну реакцію у вигляді запалення, а також відіграє важливу роль в усуненні місцевих пошкоджень, спричинених запальними процесами у серці [43].

Серце, як і інші органи, у своєму складі має гетерогенну популяцію клітин, включаючи кардіоміоцити, фібробласти, перицити, гладком'язові клітини, ендотеліальні клітини та багато типів імунних клітин.

У сучасних наукових джерелах є дані стосовного того, що фібробласти складають приблизно 15-25%, а імунні клітини – 5-10% від загальної популяції клітин серця [34, 44]. На основі цих даних можливо стверджувати, що існує певна взаємодія між фібробластами та імунними клітинами.

Як згадувалось вище, на макрофаги припадає більшість імунних клітин, виявлених у серці здорової дорослої людини [45, 46]. Також присутня невелика кількість моноцитів, дендритних клітин, тучних клітин, регуляторних Т- і В-лімфоцитів. І саме присутність цих клітин забезпечує негайну імунну відповідь [43].

Загально відомо, що головними функціями макрофага є: розпізнавання, фагоциткування та знищення апоптозних клітин і різних патогенних чинників, а також ініціювання імунної відповіді [47, 48]. Вивчення серцевих макрофагів триває декілька десятиліть та базується на розбіжності між фенотипами макрофагів та їхніми маркерами. Існує думка, що стовбурові клітини крові, які знаходять у червоному кістковому мозку перетворюються на моноцити, які циркулюють у крові. Згодом моноцити, потрапляють до різних тканин та диференціюються у тканинні макрофаги [49, 50]. Але сучасні дослідження вказують на те, що популяції резидентних макрофагів утворюються ще під час ембріонального розвитку і здатні підтримувати свою популяцію завдяки здатності до самооновлення, а не шляхом інфільтрації моноцитів крові [51-54]. Тобто, у серці розташовані макрофаги, що мають різне походження та функції. Серед них виділяють дві групи, які мають різні хемокінові рецептори CCR2- та CCR2+ [55-57]. Макрофаги з рецептором CCR2- мають ембріональне походження (жовтковий мішок), здатні до самопідтримки популяції (без участі моноцитів) та підтримки гомеостазу тканини. На відміну від них, макрофаги з рецепторами CCR2+ походять від

стовбурової клітини крові, популяція відновлюється за допомогою моноцитів, є прозапальними за функцією.

При проведенні дослідження людського серця було встановлено, що у ньому присутні CCR2- та CCR2+ серцеві макрофаги [45, 55] в стабільному стані. Серцеві макрофаги також поширені в атріовентрикулярному вузлі та забезпечують електричний зв'язок між передсерддями та шлуночками, а також сприяють електричній провідності [45].

В основі пошкодження тканин серця лежать різні патофізіологічні механізми. На сьогоднішній день найбільш вивченою є гостра ішемія. У разі некротичної загибелі клітин відбувається активація клітин мікрооточення, а саме лейкоцитів. Ініціюється запальна реакція з продукцією прозапальних цитокінів і хемокінів резидентними імунокомпетентними та неімуними клітинами, які відповідають за залучення лейкоцитів у зону пошкодження [58].

Макрофаги є невід'ємною частиною як вродженого, так і набутого імунітету, відіграючи важливу роль у захисті, запаленні та відновленні тканин. Тканини серця містять значну кількість резидентних макрофагів, яка ще більше зростає за рахунок інфільтрації циркулюючих моноцитів під час пошкодження [47].

Активація резидентних макрофагів відбувається шляхом розпізнавання молекулярних патернів, які пов'язані з чинником, що викликає пошкодження патогеном. Так, наприклад, ліпополісахариди (ЛПС) грамнегативних бактерій, ліпотейхоева кислота грампозитивних бактерій, зимозан грибів, ліпоарабіноманнан мікобактерій, бактеріальний флагеллін і токсини, вірусні та бактеріальні ДНК і одноланцюгові РНК вірусів сприймаються різними рецепторами розпізнавання [58, 59].

На додаток до PAMPs і DAMPs (Patogen Associated Molecular Pattern, Damage Associated Molecular Pattern), цитокіни, що вивільняються із клітин міокарда, пошкоджених у результаті запалення, активують резидентні макрофаги і відіграють важливу роль у їх поляризації. Наприклад, кліренс

мертвих клітин при інфаркті посилює продукцію IL-10 і TGF- β , які, в свою чергу, сприяють протизапальному M2 фенотипу. Крім того, декретовані прозапальні цитокіни діють на макрофаги і спричиняють розвиток запального фенотипу [60].

DAMPs, які включають аденозинтрифосфат (АТФ), кілька членів білків теплового шоку (HSPs), S100A8/9, білок групи високої мобільності В1 (HMGB1), гіалуронову кислоту, фібриноген, фібронектин, β -дефензин, нейтрофільну еластазу та гістони, що вивільняються з клітин, які відмирають, активують резидентні макрофаги, що призводить до продукції запальних цитокінів і викликає асептичне запалення в серці [58, 61].

Однією із причин серцевої недостатності є інфаркт міокарда, до цього призводить безліч чинників. У результаті пошкодження значної частини міокарда відбувається сильна запальна реакція, яка індукує реактивний фіброз і ремоделювання стінки шлуночків поза ділянкою ураження [62].

Реактивний фіброз пов'язують із гіпертрофією кардіоміоцитів для компенсації підвищеного навантаження за рахунок збільшення розмірів. Також відбувається надмірна секреція профібротичних факторів, що призводить до залучення прилеглих ділянок міокарда. У результаті цього починається посилена проліферація місцевих фіброblastів і синтез колагену. Неповна і пролонгована реалізація запальної стадії інфаркту міокарда також може призвести до пізньої фази ремоделювання і серцевої недостатності [63].

В останні десятиліття було проведено ряд експериментальних досліджень на рибах та тваринах, які були спрямовані на вивчення впливу макрофагів на процеси відновлення міокарду [64-66]. Було встановлено, серця рибок даніо частково регенерують у дорослому віці, оскільки вони не втрачають здатності до проліферації. Проте не останню роль у цьому відіграють і серцеві резидентні макрофаги, так як вони сприяють відновленню судин та кардіоміоцитів, а також зменшують рубцювання. Вивчення регенеративних властивостей міокарду мишей вказувало на те, що у ссавців репаративні процеси більш активно відбуваються під час

ембріогенезу і зникають після народження. Було встановлено, що регенерація тканин серця та утворення нових судин, після народження також залежить і від макрофагів [67].

У сучасній науковій літературі описано, що взаємодія між макрофагами та фібробластами відбувається за різними молекулярними шляхами [37]. Дані деяких авторів вказують на те, що активовані фібробласти підтримують експресію CSF1 (colony stimulating factor 1) під час фіброзу та запалення. У той час, як рецептор CSF1 експресується в основному на циркулюючих моноцитах і макрофагах, персистенція CSF1 забезпечує критичний сигнал для макрофагів різного походження. Вони залишаються у ділянці фіброзу і регулюють проліферацію, диференціювання, міграцію та активацію необхідних імунних клітин [68]. Встановлено, що макрофаги активують синтез білка CSF1 фібробластами, а також продукують фактори росту, які спричиняють проліферацію фібробластів [69-71]. Але не варто забувати про те, що макрофаги потрібні для реалізації фіброзу. Так як, активовані макрофаги здатні розщеплювати білки позаклітинного матриксу через протеоліз [72-74].

Необхідно зазначити, що фіброз у серцевій тканині дещо відрізняється від такого ж процесу у інших органах, тобто він більш стійкий до розсмоктування. Важливо підкреслити, що залежно від характеру пошкоджуючого чинника, запальних процесів та регенерації, поєднання фібробласт-макрофаг може по різному впливати на роботу серця.

Демонстрація функціональної різноманітності макрофагів, за нормальних умов та при пошкодженні, допомагає зрозуміти важливу роль цих клітин в організмі [75].

Вивчаючи сучасні наукові літературні джерела, нами було виявлено, що останнім часом спростовується думка стосовно лише моноцитарного походження макрофагів. Групою вчених [48] було встановлено, що попередниками цих клітин можуть бути як представники гемопоетичного ряду, так і клітини стінки жовткового мішка, які здатні проліферувати та

самовідновлюватися. Підтверджує цей факт те, що існує популяція макрофагів, яка має здатність до самозбереження, незалежно від утворення клітин моноцитарного ряду [76-78].

Відомо, що на макрофаги впливають різні подразники і у результаті цього впливу макрофаги поляризуються до M1 (прозапальних) або M2 (протизапальних). Індукція M1 відбувається шляхом стимуляції IFN γ та LPS, а M2 можна поділити на чотири підгрупи: альтернативно активовані макрофаги (M2a, активовані IL-4 або IL-13), макрофаги типу 2 (M2b, активовані імунними комплексами та LPS), деактивовані макрофаги (M2c, активовані глюкокортикоїдами або IL-10) і M2-подібні макрофаги (M2d, активовані аденозинами або IL-6). [79, 80].

За даними ряду авторів [81] активація макрофагів M1 відбувається за допомогою наступних чинників: колонієстимулюючого фактору лінії гранулоцитів та моноцитів, внутрішньоклітинних патогенів, LPS, IFN- γ , TNF- α . Особливістю цього типу є здатність до синтезу значної кількості прозапальних цитокінів, таких як IL-1 β , TNF, IL-12, IL-18 та IL-23. Також вони виявляють сильний антимікробний і протипухлинний вплив, мають високу резистентність, продукують проміжні сполуки азоту та кисню для активації Т-хелперів. Також вони експресують високі рівні головного комплексу гістосумісності II класу (MHC II), маркери CD68, CD80 і CD86.

При порівнянні активації макрофагів M1 і M2 необхідно вказати на те, що тип M2 активується іншими факторами. Серед них виділяють: грибкові, паразитарні, імунні комплекси, апоптичні клітини, колонієстимулюючий фактор макрофагів, IL-4, IL-13, TGF- β та інші. Відповідно вони виконують зовсім інші функції в організмі: сприяють відновленню пошкоджених тканин, загоюванню ран та виявляють протизапальну дію. Разом з тим, ці клітини здатні викликати алергічні реакції, стимулюють ріст пухлин і слугують резервуарами для різних патогенів. Серед рецепторів, які експресуються на поверхні виділяють CD163 і CD86 [82, 83].

Здійснений аналіз сучасної наукової літератури дає змогу дійти висновку, що для диференціювання макрофагів M1 і M2, під час проведення імуногістохімічного дослідження, важливими є два маркери – CD68 і CD163.

Як правило, CD68 локалізований в ендосомах та лізосомах, але здатен швидко переміщатися до поверхні клітин. Він є гліколізованим глікопротеїном та слугує основним цитохімічним маркером для моноцитів і макрофагів, які приймають участь у запальних процесах. [84, 85]. Необхідно підкреслити, що при проведенні експериментальних досліджень виявили, що цей маркер можна використати для розпізнання поляризації макрофагів M1 та M2 [86]. Крім того, його можна використовувати у якості ідентифікатора клітин лінії макрофагів. Наприклад, остеокластів, поліядерних клітин, гістіоцитів, клітин Купфера [87].

Стосовно CD163, у доступній нам літературі, присутня наступна інформація: він є поверхневим глікопротеїном, збагачений цистеїном і функціонує як рецептор для гемоглобін-гаптоглобінових комплексів; призводить до продукції про- та протизапальних цитокінів, що свідчить про його потенційну роль у захисті організму [88]. Експресія CD163 людини обмежена макрофагальним рядом з високою експресією, наприклад, у макрофагах червоної пульпи селезінки, червоного кісткового мозку, клітинах Купфера, макрофагах легень та деяких інших тканин [89].

Отже, рецептор CD68 є поглиначем і високо експресується тканинними макрофагами та вважається загальним маркером для макрофагів, тоді як рецептор CD163 є високоспецифічним маркером для субпопуляції M2 [90].

1.2. Вплив пригнічення синтезу гонадотропін-релізинг гормону на функціонування та структурну організацію міокарда шлуночків

Загальновідомим є те, що гонадотропін-релізинг гормон синтезується клітинами гіпоталамуса. Він впливає на функціонування клітин гіпофізу, а саме гонадотропоцитів. У результаті цього активується продукція

фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів, які стимулюють ендокриноцити статевих залоз для продукції естрогену та тестостерону. Важливим є те, що секреція гонадотропін-рилізінг гормону узгоджується з рівнем статевих гормонів у крові [25].

У сучасній медицині використовують синтетичні декапептидні аналоги цього гормону, серед яких виділяють трипторелін. Особливістю препарату є його здатність до активнішої стимуляції вироблення гонадотропних гормонів гіпофіза та більш тривала дія. При введенні препарату спостерігається підвищення концентрації статевих гормонів у сироватці крові, але з часом вироблення лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів пригнічується, у результаті чого знижується рівень тестостерону та естрогену до показників після кастрації або постклімактеричного періоду [91, 92]. Також звертає на себе увагу той факт, що при використанні синтетичних аналогів гонадотропін-рилізінг-гормону для регулювання синтезу статевих гормонів не виникає різкого гормонального сплеску, як при введенні агоністів [93].

У сучасній науковій літературі описано використання як агоністів, так і антагоністів гонадотропін-рилізінг-гормону для депривації синтезу андрогенів при прогресуючому раку передміхурової залози та інших гормонзалежних захворювань (передчасне статеве дозрівання, безпліддя, ендометріоз, гендерна дисфорія та інші) [94].

До групи агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону належать гістрелін, гозерелін, леупролід і трипторелін, а до антагоністів – дегарлікс [95]. Введення препарату проводять парентерально, в основному підшкірно або внутрішньом'язево. Максимальна концентрація препарату в крові спостерігається протягом години після введення. Частина препаратів має пролонговану дію з інтервалом введення від 1 до 12 місяців.

Загально відомим є той факт, що досить тривалий час для блокування синтезу тестостерону широко використовували метод хірургічної кастрації, проводячи двосторонню орхіектомію. На сьогоднішній день, за

рекомендацією Європейської асоціації урологів, для андрогендеприваційної терапії використовують синтетичні гормональні препарати, ефект яких набагато сильніший у порівнянні з природнім гонадотропін-рилізинг-гормоном [96, 97]. До таких препаратів відносять Трипторелін (Декапептил, Паморелін, Диферелін, Арвекап), який був винайдений наприкінці минулого століття лабораторією французької компанії «Beaufour Ipsen». Він є синтетичним аналогом гонадотропін-рилізинг-гормону, а за хімічним складом поліпептидом.

Використовують цей препарат для лікування гормонзалежного раку передміхурової залози. Шляхом пригнічення продукції гонадотропних гормонів гіпофізу відбувається зниження рівня тестостерону до показників, які отримують після хірургічної кастрації. Результатом цього є зменшення розмірів самої пухлини, але спостерігається збільшення інтерстицію залози [98]. Також трипторелін ефективно використовують для лікування онкологічних захворювань, ендометріозу, міоми матки, безпліддя.

При використанні препаратів цієї групи спостерігається ряд побічних ефектів. Одним із найпоширеніших є явище гіпогонадізму, при якому виникає еректильна дисфункція, знижується лібідо, проявляється гінекомастія. На початковому етапі лікування раку передміхурової залози, інколи виникає короткотривале погіршення перебігу захворювання. Відмічалось погіршення стану хворих на діабет та при остеопорозі. Під час довготривалого лікування цими препаратами з'являлося порушення обмінних процесів: збільшувалась вага, виникали набряки, спостерігалася втома [99, 100].

При лікуванні передчасного статевого дозрівання відмічали місцеву реакцію – утворення гематоми або стерильного абсцесу. Алергічна реакція проявлялась у вигляді кропив'янки. Натомість анафілактичні реакції були практично відсутні. Відзначали ригідність м'язів опорно-рухового апарату, тремор кінцівок та нудоту [101, 102].

У сучасній науковій літературі описані поодинокі випадки виникнення транзиторного гіпертиреозу при використанні триптореліну. Було

встановлено підвищення рівня вільного трийодтироніну і тироксину на тлі зниження синтезу тиреотропного гормону. При проведенні ультразвукового дослідження спостерігали збільшення самої залози. У результаті аналізу тиреоїдних специфічних аутоантитіл вчені встановили, що позитивними були антитиреоїдні аутоантитіла і антитиреоглобулінові аутоантитіла, а негативними - аутоантитіла до тиреотропного рецептора [103].

Зіставлення показників ефективності, побічної дії та тривалості впливу, при введенні триптореліну та лейпрореліну ацетату, показало однаковий вплив на продукцію естрогену, лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів. Але слід зазначити, що відновлення менструального циклу і функціональної активності яєчників відбувається швидше при використанні лейпрореліну ацетату, що вказує на більш тривалу дію триптореліну [104].

Зміст вищевикладеного зводиться до того, що використання синтетичних аналогів гонадотропін-рилізінг-гормону у сучасній медицині є досить ефективним. Але у наукових літературних джерелах практично відсутня інформація щодо впливу цих препаратів на структурну організацію міокарда. Натомість, наявний значний обсяг даних про вплив тестостерона на органи серцево-судинної системи.

Досить тривалий час вважали, що андрогени виявляють шкідливий вплив на серцево-судинну систему. Але останні дані продемонстрували сприятливий вплив тестостерону на ремоделювання серця та судин. Значна кількість клінічних доказів підкреслює, що низький рівень тестостерону у плазмі слід розглядати як фактор ризику серцево-судинних захворювань [105]. І тому, краще розуміння механізму регуляції впливу тестостерону та його відсутності на серцево-судинну систему може призвести до нових терапевтичних стратегій при хронічній серцевій недостатності і після перенесеного кардіохірургічного втручання.

Відомо, що одним із андрогенів є тестостерон, який продукується сім'яниками у чоловіків. Більша частина тестостерону зв'язана з білками

плазми крові: 40-50% альбуміну та 50-60% глобуліну. 1-2% циркулюють у вільному, незв'язаному стані [106].

Частина тестостерона перетворюється ферментом ароматазою на естрадіол, тобто тестостерон діє наступним чином: шляхом прямої або опосередковано активації андрогенних рецепторів, шляхом активації рецепторів естрогенів, після перетворення на естрадіол [107].

Інформація про важливу роль, яку відіграє система андрогенних рецепторів у функціонуванні серцево-судинної системи, була отримана шляхом експериментального дослідження на мишах з інактивованими андрогенними рецепторами. Це дало змогу отримати уявлення про функціональну активність андрогенів в адипоцитах [108], мозку [109], кістках [110] та серцево-судинній системі [111].

Андрогенні рецептори також існують у кардіоміоцитах [112] і відіграють важливу роль у модуляції серцевої гіпертрофії та ремоделюванні серця після інфаркту міокарда [113].

При вивченні впливу тестостерону на проліферацію та синтез колагену неонатальних серцевих фібробластів новонароджених щурів, індукованих ангіотензином II було встановлено, що тестостерон може пригнічувати проліферацію серцевих фібробластів і синтез колагену *in vitro*, таким чином потенційно відіграючи важливу роль у пригніченні фіброзу серця. Крім того, механізм, що лежить в основі цього впливу, може бути пов'язаний з інгібуванням сигнальних шляхів ERK1/2 [114].

Відомо, що більшість андрогенів скорочують серцевий потенціал дії та знижують ризик постдеполяризацій. При проведенні електрофізіологічного дослідження вільної стінки правого шлуночка щура з перфузією *in vivo* виявили кореляцію між андрогенною активністю та схильністю до генерації шлуночкових ектопічних потенціалів дії. Також, було встановлено, що тестостерон збільшує тривалість потенціалу дії при 90% реполяризації [115].

У працях Regouat N та співавторів [116] описаний вплив кастрації та додавання тестостерону на нітритно-відновний статус, маркери серцевого

метаболізму та експресію білка S100 у серці самців щурів. Було доведено, що дефіцит тестостерону призводить до змін у роботі серця, що призводило до порушення регуляції окислювального статусу, метаболічного дисбалансу, підвищення регуляції матриксних металопротеїназ 2 і 9, зниження експресії білків S100. Відновлення відбувалося при додаванні тестостерону, що доводило позитивний вплив замісної терапії тестостероном на роботу серця у кастрованих самців щурів.

Необхідно вказати на те, що рецептори андрогенів серця модулюють адаптивну гіпертрофію та фіброз при ремоделюванні серця під час гіпертрофічного стресу, а також захищають серце від негативного впливу, спричиненого ангіотензином II [117]. Андрогенні рецептори також присутні в кардіоміоцитах і відіграють важливу роль у модуляції гіпертрофії серця та регенерації після інфаркту міокарда [118]. Дефіцит тестостерону пов'язаний з негативним прогнозом у пацієнтів із серцевою недостатністю [119].

Тестостерон пов'язаний з підвищеним ризиком ішемічної хвороби серця. У сучасних наукових джерелах є дані про дослідження, під час якого оцінювали ремоделювання серця через 60 днів після інфаркту міокарда у щурів з дефіцитом тестостерону. Через тиждень після кастрації тварини перенесли інфаркт міокарда. Було встановлено, що кастрація зменшила гіпертрофію міоцитів у порівнянні з імітацією та інфарктом міокарда окремо, а також зберегла силу скорочення та час активації після інфаркту міокарда. Але результати вказували і на те, що дефіцит тестостерону пов'язаний із несприятливим перебігом ремоделювання серця після інфаркту міокарда [120].

Серцево-судинні ефекти андрогенних гормонів у нормі та при патологічних станах можуть мати різнобічний вплив. Причина цієї варіації невідома, але на неї можуть впливати гендерно-специфічні ефекти андрогенів, гетерогенність ендотелію судин, диференціальна експресія рецептора андрогену в ендотеліальних клітинах і шлях введення андрогену. Як правило, андрогенні гормони є корисними для клітин ендотелію, оскільки

вони індукують виробництво оксиду азоту, проліферацію, рухливість і ріст клітин, а також пригнічують запальну активацію, індукцію прокоагулянтів та адгезивні властивості ендотелію. Це запобігає ендотеліальній дисфункції, що є важливим початковим кроком у розвитку судинних патологій, включаючи атеросклероз. Однак андрогени також можуть активувати ендотеліальний синтез деяких вазоконстрикторів, що може мати негативний вплив на ендотелій судин. Андрогени також активують проліферацію, міграцію та залучення ендотеліальних клітин-попередників, тим самим сприяючи репарації судин і відновленню ендотеліального шару [121].

Деякі дослідження показали, що нормальний рівень ендогенних андрогенів може відігравати кардіопротекторну роль при запобіганні серцево-судинним захворюванням [122].

При проведенні метааналізу було встановлено, що чоловіки при низькому рівні тестостерону мають підвищений ризик смерті від серцево-судинної патології, порівняно з нормальним або високим рівнем тестостерону у чоловіків [123].

У працях Keating вперше було зазначено про значний ризик розвитку діабету, ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда та раптової серцевої смерті, у зв'язку з прийомом агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону [124].

При проведенні досліджень на тваринах були встановлені механізми, за допомогою яких андрогенна деприваційна терапія підвищує ризик захворювань серцево-судинної системи. До них відносять розвиток і прогресування атеросклерозу, дисліпідемії, метаболічного синдрому та інсулінорезистентності [125].

1.3. Ефект використання кверцетину при ряді патологічних станів

Відомо, що до групи флавоноїдів входять фітохімічні речовини рослинного походження з вираженими антиоксидантними властивостями. Флавоноїди мають загальну базову структуру, що складається з трикільцевої

системи з центральним кисневмісним кільцем (С-кільце) [126]. Заміщення центрального піранового кільця та різний ступінь окислення зумовлюють їх хімічну різноманітність [127]. На основі цих відмінностей флавоноїди включають широкий спектр сполук, таких як флавони, флавоноли, флаваноли, антоціанідини та антоціани [128]. Природні флавоноїди можуть існувати у вільній формі (аглікони) або у вигляді глікозидів, конденсованих з гідроксильною групою цукру, такого як глюкоза, галактоза, рамноза, глюкуронід, ксилоза та арабіноза [129]. Вони широко розповсюджені, переважно в овочах, насінні, горіхах, спеціях, травах, какао та шкірці винограду.

Флавоноли часто характеризуються гідроксильною групою в С3 (3-гідроксифлаволи), тому їх часто називають 3-гідроксифлавонами. До цієї групи флавонолів відносять мірицетин, кверцетин, кемпферол і рутин та їх відповідні глікозиди, які можуть бути глюкозидами, глюкуронидами, галактозидами і диглікозидами. Відомо, що ці сполуки мають широкий спектр біологічного впливу і вважаються найактивнішим сполуками в групі флавоноїдів [130]. Серед них особливе місце відводиться кверцетину.

Назва кверцетин (3,3',4',5,7-пентагідроксифлавонол) походить від латинського слова "Quercetum", що означає "дубовий ліс", належить до класу флавонолів, які не можуть вироблятися в організмі людини. Він має жовтий колір, погано розчиняється у гарячій воді, добре – у спирті та ліпідах і нерозчинний у холодній воді. Це один з найпоширеніших харчових флавоноїдів, який міститься у фруктах (переважно цитрусових), зелених листових овочах, а також у гречці, горіхах, квітах, корі, броколі, оливковій олії, яблуках, цибулі, зеленому чаї, червоному винограді, червоному вині, темних вишнях і ягодах, таких як чорниця і журавлина. Найвищі концентрації флавонолів були виявлені в овочах, таких як цибуля і броколі, фруктах, таких як яблука, вишні та ягоди, і напоях, таких як чай і червоне вино. Завдяки своїм унікальним властивостям кверцетин здатен активувати резервні сили організму та покращувати фізичну і розумову активність [131,

132]. Також, він здатен активувати утворення мітохондрій в клітинах організму, знижує проникність капілярної стінки, послаблює агрегацію тромбоцитів, володіє протизапальним, противірусним і антиканцерогенним ефектом [133, 134]. Вибіркове знешкодження старіючих клітин – ще одна цікава властивість кверцетину. Оскільки, частина клітин людського організму стійка до апоптозу і регуляції антиапоптотичних дій, у них є можливість вижити. Але вони стають джерелом хронічних захворювань [134].

Неконтрольоване розмноження і ріст клітин слугує передумовою для виникнення онкологічних захворювань. Більшість протиракових препаратів є токсичними та викликають ряд побічних ефектів [135]. Як згадувалось вище, флавоноїди мають антиканцерогенний ефект, так як вони можуть пригнічувати ріст клітин і їх можна використовувати для зменшення ризику утворення злоякісних пухлин [136, 137].

У сучасній медицині приділяється значна увага використанню природних сполук для лікування раку. Природний флаванол кверцетин міститься у багатьох продуктах харчування, а саме в зернових, овочах, фруктах та зеленому чаї. Однією з його особливостей є здатність пригнічувати прогресування раку різними механізмами. До них можна віднести: зупинку клітинного циклу, посилення апоптозу, реплікацію антиоксидантів, модуляцію естрогенових рецепторів, регуляцію сигнальних шляхів, пригнічення метастазування та ангіогенезу. Після проведення ряду досліджень, науковці зосередилися на протираковому потенціалі кверцетину при колоректальному раку [138].

Необхідно звернути увагу на те, що в організмі людини реактивні форми кисню утворюються як побічні продукти електронно-транспортного ланцюга. Вони необхідні для фосфорилування білків, ініціації численних транскрипційних факторів, апоптозу, імунітету і процесів диференціювання. Разом з тим, вступаючи в реакцію з молекулами ліпідів, білків або нуклеїнових кислот спричиняють окислювальний стрес. У результаті

перекисного окислення ліпідів, під дією реактивних форм кисню відбувається пошкодження клітинної мембрани. Мембрана має позитивний заряд на зовнішній стороні клітини і негативний всередині клітини. При пошкодженні змінюється мембранний потенціал клітини та її осмотичний тиск, що зрештою призводить до загибелі клітини. Для боротьби з ендогенним підвищеним рівнем реактивних форм кисню організм людини використовує різні механізми та ферменти [139]. Флавоноїди діють як екзогенні антиоксиданти і безпосередньо окислюються радикалами з утворенням менш активних форм за допомогою наступних механізмів: пригнічення активності синтази оксиду азоту і ксантинооксидази, модуляція каналних шляхів і взаємодія з іншими ферментними системами [140, 141]. Кверцетин, як антиоксидантний флавоноїд, покращує стан судинної стінки і знижує ризик серцево-судинних захворювань у своїй кон'югованій формі. Також він та його похідні запобігають тромбозу, зменшують ризик інсульту [142].

Дані деяких авторів вказують на те, що при проведенні значної кількості експериментальних та епідеміологічних досліджень, було підтверджено захисну дію флавоноїдів при серцево-судинних та хронічних дегенеративних захворюваннях [143]. Кардіопротекторні ефекти, які приписують флавоноїдам щодо розвитку атеросклерозу, можуть бути пов'язані зі здатністю флавоноїдів покращувати ліпідний профіль і зменшувати інсулінорезистентність та оксидативний стрес [134, 144, 145].

У працях Apparupa та ін. [146] описали дослідження кардіопротекторної дії кверцетину і рутину у здорових щурів та при змодельованому цукровому діабеті. Прийом кверцетину та рутину показав захисний ефект при інфаркті міокарда, як у нормальних, так і у щурів з діабетом. Таким чином, було зроблено висновок, що захисні властивості кверцетину та рутину можуть бути зумовлені підвищеною антиоксидантною активністю.

Досліджуючи вплив кверцетину на міокард при діабеті, спостерігали як позитивний, так і негативний вплив на амплітуду і максимальне скорочення кардіоміоцитів [147].

Запалення та окислювальний стрес відіграють важливу роль у посттравматичному апоптозі кардіоміоцитів, що сприяє вторинній серцевій дисфункції. При вивченні захисного ефекту кверцетину при вторинному серцевому пошкодженні внаслідок травми було встановлено, що попередня обробка кверцетином зменшує посттравматичний апоптоз кардіоміоцитів. У результаті цього стає можливим повернути назад посттравматичну серцеву дисфункцію. Тобто, кверцетин є потенційним профілактичним засобом вторинного ураження серця після механічної травми [148].

Стає зрозумілим, що кверцетин має потенційну цінність для лікування серцево-судинної патології. Складнощі, щодо використання його у клініці полягають у його водорозчинності. Обмеження кверцетину можна значно зменшити, доставляючи його за допомогою наноносіїв. Група вчених, провівши ряд досліджень *in vivo* та *in vitro* встановили, що використання кверцетину разом з наночастинками було ефективнішим в інгібуванні апоптозу клітин і окисного стресу, зменшенні розміру інфаркту міокарда, покращенні ремоделювання шлуночків і біохімічних індексів, пов'язаних з функцією серця та сприянні відновленню серцевого кровотоку [149].

Дієтичні флавоноїди демонструють сприятливий зв'язок між їх споживанням і зниженням серцево-судинних захворювань [150]. При проведенні ряду експериментальних досліджень було встановлено, що ті, хто споживає велику кількість флавоноїдів, мають на 18% нижчий ризик смертності від серцево-судинних захворювань. Різні дослідження показали, що флавоноїди мають не тільки кардіопротекторну, а й нейропротекторну дію [151, 152].

Споживання флавоноїдів у їжу зменшує жорсткість артеріальної стінки, що знижує ризик серцево-судинних захворювань. Ригідність артерій - це маркер старіння судин, який все частіше використовується в клінічних

умовах і оцінюється за швидкістю пульсової хвилі. Він виявився надійним прогнозуючим параметром для серцево-судинних захворювань та смертності. [153].

Використання кверцетину, як лікарського засобу, захищало від ішемії міокарда та реперфузійного ушкодження шляхом зниження окисного стресу, пригнічення каскадів запалення та інгібування апоптозу *in vivo* [154].

Кверцетин пригнічує агрегацію тромбоцитів і покращує стан ендотелію. Крім того, він захищає від ішемічної хвороби та знижує ризик смертності, спричиненої ліпопротеїнами низької щільності. Відомо, що він виявляє важливі судинорозширювальні властивості на ізольованих артеріях, що допомагає знизити артеріальний тиск і запобігає розвитку гіпертрофії серця [155].

Кверцетин запобігає пошкодженню судин підвищеними рівнями холестерину та ліпопротеїнів низької щільності. Дослідження показали, що люди, які споживають харчові добавки з високим вмістом флавоноїдів, мають нижчий рівень холестерину. В одному з досліджень було виявлено, що вживання кверцетину та безалкогольного екстракту червоного вина (який містить кверцетин), пригнічує окислення ліпопротеїнів низької щільності [156]. Під час 6-тижневого клінічного дослідження було визначено, що кверцетин у дозі 150 мг/добу знижує систолічний артеріальний тиск та рівень окислених ліпопротеїнів низької щільності в плазмі крові у людей з надмірною вагою, які мали високий ризик серцевих захворювань [157]. Кверцетин має специфічну властивість пригнічувати накопичення жиру в зрілих жирових клітинах людини і одночасно запускати апоптоз (запрограмоване знищення) в існуючих жирових клітинах [158, 159]. Крім того, кверцетин блокує поглинання глюкози з крові, зменшує розмноження жирових клітин [160,161]. Споживання харчових волокон із зернових і фруктів, незалежно один від одного, обернено пропорційно пов'язане з ризиком смертності від ішемічної хвороби серця. Споживання десяти грамів

харчових волокон із зернових знижували ризик смертності від ішемічної хвороби серця на 29%, а харчових волокон із фруктів – на 35% [162, 163].

При проведенні експериментальних досліджень був встановлений позитивний вплив кверцетину при різних захворюваннях. Він запобігає ускладненням після антиканцерогенної терапії та після трансплантації органів. Декілька років тому розпочали клінічні дослідження щодо використання кверцетину при ідіопатичному легеневому фіброзі, хворобі Альцгеймера, COVID19, остеоартриті, остеопорозі, захворюваннях очей і трансплантації кісткового мозку у дітей, які перенесли рак [164].

Останнім часом, вивчення процесів старіння все більше привертає увагу вчених, а саме запобігання ускладненням. Серед ускладнень особливе місце займає процес порушення клітинного балансу у кістковій тканині, коли зменшується кількість остеобластів і збільшується кількість адипоцитів. Кістка стає більш крихкою та схильною до переломів [165, 166]. Клінічні методи лікування постменопаузального остеопорозу, спричиненого дефіцитом естрогенів, та пов'язаних з ним захворювань, таких як кісткова дегенерація, демонструють численні побічні ефекти. Вплив на старіючі клітини та пов'язаний з ними секреторний фенотип за допомогою комбінації дазатинібу та кверцетину є нещодавно розробленою новою схемою терапії багатьох вікових захворювань [167].

1.4. Резюме:

Аналіз наукових літературних джерел дозволяє нам зробити висновок про те, що:

- проведено значну кількість доклінічних та клінічних досліджень з використанням триптореліну та кверцетину. Але інформація щодо впливу триптореліну на ГМЦР інтерстицію шлуночків міокарда, а саме капілярної ланки, практично відсутня.

- також відсутні дані про вплив рилізінг-гормонів на біохімічні показники, такі як продукція супероксидного аніон-радикалу (САР), гіперпродукція активних форм кисню.

- недостатньо описаний вплив кверцетину на активність антиоксидантних ферментів (СОД), активність каталази; перекисного окислення ліпідів, цикл оксиду азоту.

- замало представлено даних про М1 і М2 поляризацію макрофагів інтерстицію міокарда шлуночків, експресію рецепторів CD68 та CD163, а також активність каспази-3, що приймає участь в процесах апоптозу.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріал дослідження

Матеріалом дослідження служив міокард шлуночків, взятий від 60 дорослих самців білих щурів масою (140-250) г. Білі щури, як об'єкт дослідження, є найбільш вірогідним для групового експерименту, на якому можливо отримати однотипні зміни [168].

При проведенні досліджень дотримувались міжнародних правил та принципів Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та Закону України №3447 “Про захист тварин від жорстокого поводження” IV від 21.02.2006 р [169, 170]. Комісія з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії видала дозвіл на проведення науково-дослідної роботи (витяг з протоколу засідання комісії з питань біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії № 179 від 28.01.2020 року). Робота виконана в рамках планової науково-дослідної теми кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету МОЗ, дослідження є фрагментом наукового проекту «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925. Аспірант є співвиконавцем даної комплексної науководослідної роботи.

Матеріал дослідження був розподілений на три групи: I група – контроль, яким вводили фізіологічний розчин; II група – тварини, яким вводився розчин триптореліну; III група – тварини, яким на тлі введеного триптореліну, вводився кверцетин (див.табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Кількісна характеристика експериментального матеріалу згідно термінів дослідження

№ п/п	Терміни експерименту	Експериментальні групи дослідження			
		I група - Контроль	II група - трипторелін	III група - трипторелін і кверцетин	Всього
1.	1 місяць		5	5	10
2.	3 місяць		5	5	10
3.	6 місяць		5	5	10
4.	9 місяць		5	5	10
5.	12 місяць		5	5	10
6.	Всього	10	25	25	60

Предметом дослідження – служили процеси та динаміка змін структурних компонентів інстерстиційного (сполучно-тканинного) прошарку в міокарді шлуночків в групах: контролю (I група), при введенні триптореліну (II група) та введенні на тлі триптореліну перорально кверцетину (III група).

2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування

Тварини усіх груп утримували на загальноприйнятому раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. При щоденному огляді контролювали загальний стан, ступінь прояву місцевих змін, масу тіла і летальність білих щурів. Експеримент та відбір тварин проводили поетапно, спочатку тварин було оглянуто, враховували стан шкіри, рухову активність та витримували тиждень в карантині до початку експерименту. Далі визначали інтактні рівні досліджуваних показників, вибраковували тварин із значеннями цих показників, що різко відрізнялись [171].

Для виключення впливу на експеримент добових та сезонних ритмів біологічної активності, досліди проводились демісезонно, завжди в ранковий час через 16 годин після останнього годування.

Перелік методів дослідження: - експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах:

- гістологічний метод – дослідження міокарду шлуночків білих щурів;
- морфометричний метод – дослідження препаратів міокарду шлуночків білих щурів;
- імуногістохімічний метод – дослідження препаратів міокарду шлуночків білих щурів;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

2.2.1. Модель експерименту

Експериментальні методи дослідження проводилися у штучно створених умовах на базі віварію Полтавського державного медичного університету. Об'єктом дослідження були препарати міокарду шлуночків білих щурів.

1). I група – контрольна (10 тварин), формувалась за загальноприйнятою методикою. З метою відтворення реакції на фізичне подразнення при введенні препаратів (трипторелін і кверцетин), тваринам вводили фізіологічний розчин. Розчин вводився підшкірно, кожні 3 місяці у дозі 0,3 мг діючої речовини на 1 кг маси тіла з відповідним об'ємом [172].

2). II група – 25 тварин, яким підшкірно вводили трипторелін ацетат у дозі 0,3 мг діючої речовини на 1 кг маси тіла, один раз на три місяці, з попередньою перевіркою ваги тварин. Розрахунок об'єму введеного розчину, підраховувався окремо в залежності від маси тіла щура [173]. Триптореліну ацетат - синтетичний лікарський препарат, є поліпептидом за хімічною будовою та аналогом гонадотропін-релізінг гормону, який вводиться підшкірно та внутрішньом'язево.

3). III група – 25 тварин, яким підшкірно вводили триптореліну ацетат у дозі 0,3 мг діючої речовини на кг маси тіла, один раз на три місяці, з попередньою перевіркою ваги тварин. На тлі введеного триптореліну вводився кверцетин. Цей препарат вводили перорально за допомогою гастрального зонду у вигляді водної суспензії три рази на тиждень. Дози вираховувались з перерахуну: 100 мг кверцетину на кг маси тіла щура, протягом 12 місяців, починаючи з першого дня експерименту, кожен раз з урахуванням маси тіла тварин [173]. Кверцетин - це природна речовина, яка відноситься до групи флавоноїдів.

Дослідження показали, що присутність у раціоні продуктів з високим вмістом кверцетину здатна значно покращувати стан організму загалом. Він є одним із сильних антиоксидантів, знижує ризик розвитку хронічних захворювань, запалень та алергічних реакцій, зменшує ризик розвитку онкологічних та серцево-судинних захворювань.

Із експерименту тварин усіх груп виводили шляхом передозування ефірного наркозу згідно встановлених термінів на 1-й, 3-й, 6-й, 9-й, 12-й місяці (див. табл. 2.1).

2.2.2. Гістологічне дослідження інтерстицію міокарду шлуночків білих щурів

Матеріал для мікроскопічного дослідження брали відразу після евтаназії тварин, згідно термінів експерименту, у попередньо зважених тварин усіх груп. Шматочки міокарду шлуночків піддослідних тварин поміщали у відповідні фіксатори, в залежності від запланованих методів досліджень. Міокард шлуночків ретельно відсепаровували з подальшою фіксацією матеріалу в 10% розчині нейтрального формаліну на протязі 24-48 годин у щільно закритому посуді. Застосований фіксує розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини та тканини для їх подальшого використання в процедурах забарвлення. Матеріал міокарду шлуночків товщиною 1 см поміщали в марлеву тканину для рівномірного омивання тканин впродовж 24-48 годин. Структура та метричні показники загальної

площі міокарду шлуночків визначали на парафінових зрізах [174,175]. Виготовлення парафінових блоків проводилося на базі Полтавського обласного патологоанатомічного бюро Полтавської обласної ради. Матеріал міокарду шлуночків ущільнювали в парафін, за загальноприйнятою методикою та виготовляли зрізи на санному мікротомі МС-2 товщиною (4-5) мкм, які забарвлювали гематоксиліном і еозином [174,175]. Гістологічні препарати досліджували за допомогою Віогех 3 світловий мікроскоп з цифровим мікрофільтром із програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень (серійний номер 5605).

За допомогою стереоскопічного мікроскопу здійснювали оцінку якості отриманих зрізів. Якісні зрізи товщиною (1-2) мкм знімали зі спинки сухого леза за допомогою тонкого пінцету, а потім переносили на краплі 10% розчину ацетону на дистильованій воді, нанесені на предметні скельця, що забезпечувало краще розправлення і фіксацію зрізів до поверхні скла. Для закріплення послідовності розподілу серійних напівтонких зрізів використовували принцип трафаретної розкладки по 18 штук з одного кінця предметного скла. Втрата зрізів при такій методиці становить не більше 3–4 %. Перед забарвленням предметні скельця зі зрізами витримували впродовж доби в термостаті при температурі (45–50) °С з метою якісного прикріплення зрізів до поверхні предметного скла. Забарвлення проводили гематоксилін-еозином, за стандартною методикою [176].

2.2.3. Біохімічні методи дослідження

Всі біохімічні дослідження проводились у 10% гомогенаті серця щурів на спектрофотометрі Ulab 101.

Приготування 10 % гомогенату тканин серця. Частина серця, яка підлягала гомогенізації (тканини лівого шлуночка), зважували на терезах з точністю до 0,01 г. Після чого наважку тканини переносили до фарфорової ступки об'ємом 250 мл. Тканину в чашці подрібнювали ножицями та додавали 50 мг стерильного кварцевого піску. Після чого пестиком розтирали тканину із піском до гомогенної маси. До отриманої гомогенної маси

додавали Трис-НСІ буферний розчин (0,1 М рН=7,4) із розрахунку 1 г наважки на 9 мл буферного розчину. Суміш ретельно перемішували та переносили у центрифужні пробірки. Центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Надосад кількісно переносили у нові центрифужні пробірки для подальших біохімічних досліджень.

Визначення активності ізоформ NO-синтаз. Для визначення загальної NO-синтазної активності (зНОС) до інкубаційного середовища, що містить 2,5 мл Трис-НСІ буферного розчину (0,1 М рН=7,4), 0,3 мл 320 мМ розчину аргініну гідрохлориду та 0,1 мл 1 мМ розчину НАДФН-відновленого, додавали 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця. Після чого, негайно відбирали 0,2 мл отриманої суміші для визначення концентрації нітритів (Н1). Далі суміш інкубували протягом 30 хв у термостаті з $t=37^{\circ}\text{C}$. Після чого відбирали 0,2 мл для визначення концентрації нітритів (Н2). Загальну NO-синтазну активність розраховували як: $\text{зНОС}=(\text{Н2}-\text{Н1})\cdot 2057/\text{Б}$ мкмоль/хв на грам білка, де Б – концентрація білка г/л.

Для визначення активності конститутивних ізоформ NO-синтази (кНОС) до інкубаційного середовища, що містить 2,3 мл Трис-НСІ буферного розчину (0,1 М рН=7,4), 0,3 мл 320 мМ розчину аргініну гідрохлориду, 0,2 мл 1% розчину аміногуанідину гідрохлориду та 0,1 мл 8 мМ розчину НАДФН-відновленого, додавали 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця. Далі суміш інкубували протягом 60 хв у термостаті з $t=37^{\circ}\text{C}$. Після чого відбирали 0,2 мл для визначення концентрації нітритів (Н3). Активність кНОС розраховували: $\text{кНОС}=(\text{Н3}-\text{Н1})\cdot 1028,5/\text{Б}$ мкмоль/хв на грам білка, де Б – концентрація білка г/л. Активність індукційної ізоформи NO-синтази (іНОС) розраховували за формулою: $\text{зНОС}-\text{кНОС}$.

Концентрацію нітритів визначали на довжині хвилі 540 нм із використанням реактиву Грісса в модифікації Ілосвая [177]. Концентрацію білка визначали за допомогою біуретового реактиву та виражали в г/л досліджуваної рідини.

Визначення активності аргіназ. Активність аргіназ визначали за приростом концентрації L-орнітину після інкубації 0,1 мл 10% гомогенату серця в середовищі, що містить 0,3 мл 24мМ розчину L-аргініну та 0,5 мл фосфатного буферного розчину (0,1 М рН=7,0), протягом 20 годин при температурі $t=37^{\circ}\text{C}$. Активність аргіназ розраховували за формулою: $(O_2 - O_1) * 1000 / (B * 20)$, де O_1 – вміст L-орнітину до інкубації, O_2 – вміст L-орнітину після інкубації, B – концентрація білка г/л [178].

Визначення концентрації малонового діальдегіду (МДА). Вміст малонового діальдегіду визначали по вмісту специфічного кольорового продукту, який утворюється в реакції МДА з 1-метил-2феніл-індолем. Для чого 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця додавали до 0,65 мл суміші ацетонітрил-метанол (3:1), після чого до утвореного розчину додавали 0,15 мл концентрованої соляної кислоти та інкубували при $t=45^{\circ}\text{C}$ 40 хв [179].

Визначення продукції супероксидного аніон-радикалу (САР). Визначення продукції супероксидного аніон-радикалу проводили по приросту диформазану, що утворюється в реакції нітросинього тетразолію з САР. Базову продукцію визначали без присутності індукторів, продукцію від мікросомального електронно-транспортного ланцюга – в присутності 0,05 мл 3% розчину НАДФН-відновленого, продукцію від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга – в присутності 0,05 мл 3% розчину НАДН-відновленого [180].

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД). Активність СОД визначали по здатності СОД інгібувати аутоокиснення адреналіну в лужному середовищі ($\text{pH} > 10$), де 1 умовна одиниця (у.о.) дорівнює зниженню реакції аутоокиснення на 50%. Для цього 0,1 мл 10% гомогенату тканин серця додавали до 3,6 мл карбонатного буферного розчину (0,1 М рН=10,6). Після цього до суміші додавали 0,5 мл 1,82% розчину адреналіну. Визначали приріст світлопоглинання за 5 хв (дельта А) на довжині хвилі 405 нм. Активність СОД визначали за формулою:

$T = (\text{стандарт } A - \text{дельта } A) / \text{стандарт } A * 100\%$, де стандарт A - швидкість аутоокиснення адреналіну у відсутності гомогенату.

Активність СОД = $(T / (100 - T))$ [181].

Визначення активності каталази. Для оцінки активності каталази до 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця додавали 2 мл 0,03% розчину пероксиду водню. Інкубація протягом 10 хв при кімнатній температурі ($t=22-26^{\circ}\text{C}$). Після чого до суміші додавали 1 мл 2% розчину молібдату амонію та визначали оптичну густину (O) на довжині хвилі 405 нм. Активність каталази розраховували за формулою: $O * 3,2 * 10 * 0,0222$ (мккат/г) [182].

2.2.4. Імуногістохімічний метод дослідження міокарду шлуночків

Імуногістохімічні дослідження проводили на базі кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету (завідувач кафедри проф. Романюк А.М.). З метою візуалізації окремих клітинних компонентів нами використовувався імуногістохімічний метод із застосуванням специфічних антитіл. Із парафінових блоків, виготовлених за описаною вище методикою, отримували зрізи товщиною до 5 мкм, наносили на високоадгезивні предметні скельця SuperFrost (Thermo Scientific. США). Просушування скелець зі змонтованими зрізами проводилось в термостаті упродовж 18 годин при температурі 37°C , після чого проводили депарафінізацію і зневоднення у ксилолі та спиртах зростаючої концентрації. На водяній бані при температурі $(95-98)^{\circ}\text{C}$ виконували демаскування рецепторів в середовищі цитратного буферу (pH 6.0). За допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo scientific. США) візуалізували первинні антитіла. Посилення імуногістохімічної реакції здійснювали у вологій камері за допомогою «Primary Antibody Amplifier Quanto» (Thermo Scientific. США) у рекомендованих виробником розведеннях з використанням діамінобензидину (Thermo Scientific. США) як барвника. Для блокування ендогенної пероксидази та неспецифічного фонового фарбування використовували «Hydrogen Peroxide Block» та

«UltraVision Protein Block» (Thermo Scientific, США) відповідно. Дофарбовування отриманих препаратів для кращої візуалізації здійснювалось після проходження імуногістохімічної реакції гематоксилином Майєра.

Ми використовували первинні антитіла проти CD163 (клон EP 324, Master Diagnostica, готові до використання), CD68 (клон Ab-3, Thermo Fisher Scientific, у розведенні 1:200) та Casp3 (Abcam, ab32042, розведення 1:250). Для кожного зразка аналізували щонайменше шість різних полів зору (FOV) діаметром 1 мм. Результати ІГХ були представлені як середня кількість позитивних клітин на FOV.

Для проведення імуногістохімічного дослідження макрофагів ІМШ наявність CD68 рецепторів нами, після виготовлення парафінових блоків, була проведена депарафінізація зрізів з послідовним демаскуванням антигенів. Ця процедура направлена на відновлення оригінальної структури білка, яка може бути відтворена за допомогою ферментів (трипсину) або в мікрохвильовій печі.

Протокол обробки в мікрохвильовій печі.

1. Демаскування в PBS (фосфатний буфер), pH=6,0, потім на 7 хвилин при 700Вт в мікрохвильову піч, доливали буферний розчин. Далі 20 хвилин при 350Вт в мікрохвильову піч.
2. Залишити в PBS, pH=6,0 – 15 хвилин.
3. Прибрати PBS, pH=6,0, залити PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
4. Потім додавали перші антитіла 1:150, кон'юговані з МАВ 1435. Anti-Macrophages/Antibody, clon ED-1 – «Chemicon». – на 1 годину.
5. Промивка PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
6. Додавання других антитіл 1:100 Goat anti-Mouse (Murine) IgG (Heave & Light Chain), (Whole Molecule) Hilyte Flour 488 – 30 хвилин в темноті.
7. Промивка PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
Заключення під гліцерин з PBS 1:1 під скло.

2.2.5. Морфометрія препаратів міокарду шлуночків білих щурів

Дослідження структурних компонентів ІМШ білих щурів показало, що на цих препаратах ми мали можливість вірогідно визначити діаметри ГМЦР. Для проведення морфометричного аналізу міокарду шлуночків білих щурів, здійснювали виміри діаметру артеріол, капілярів та венул. Дійсний діаметр (D) встановлювали за допомогою окуляра-мікрометра при збільшенні мікроскопа об'єктив: 100×збільшення, окуляр: 10×збільшення. У випадку коли компоненти ГМЦР мали нестандартну форму ядра або цитоплазми, вимірювання проводилось фрагментацією за допомогою програми AimImageExaminer версії 4.2.0.121; авторське право Carl Zeiss MicroImaging. Кількісний підрахунок клітин інтерстиційного прошарку визначався в полях зору, шляхом візуального оцінювання за допомогою світлового мікроскопу Biogex 3 з цифровим мікрофільтром із програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень (серійний номер 5605), об'єктив: 100×збільшення, окуляр: 10×збільшення. В результаті морфометричного дослідження встановлено дійсні діаметри артеріол, капілярів та венул ІМШ білих щурів за умов експерименту.

2.2.6. Статистичне обробка результатів дослідження

Обробку отриманих морфометричних параметрів проводили за загальноприйнятими правилами варіаційної статистики [183], з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 2019 на базі операційної системи Windows 10. Результати представлені як середнє значення ознаки (M) та стандартне відхилення (SD) для кожної вибірки або як відсоток збільшення порівняно з контролем. Перевірка гіпотези про достовірність різниці середніх на вибірках з розподілом, близьким до нормального проводилась за допомогою статистичного критерія t – Стьюдента для незалежних вибірок.

Застосовані методи дослідження дають можливість вивчити структуру та морфофункціональні зміни міокарду шлуночків та динаміку змін показників при експерименті.

РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ІНТЕРСТИЦІЮ МІОКАРДА ШЛУНОЧКІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ТРИПТОРЕЛІНУ ТА КОРЕКЦІЇ СТАНУ ВВЕДЕННЯМ КВЕРЦЕТИНУУ ЩУРІВ

3.1. Характеристика ІМШ у контрольній групі щурів

При мікроскопічному аналізі напівтонких зрізів лівих шлуночків серця контрольної групи тварин нами було встановлено, що основною популяцією, як по площі, так і по кількості в міокарді були кардіоміоцити (КМ). Вони мали майже прямокутну форму. Ядра КМ були овальної, або видовженої форми, в кількості 1-2, і розміщувалися в центральній частині клітини. Міофібрили займали периферійну частину цитоплазми. Характерною морфологічною ознакою серцевого м'яза були контакти двох сусідніх КМ. На межі прилягання бокових поверхонь КМ розташовувалися сполучно-тканинні компоненти, зокрема колагенових волокон (КВ) пухкої волокнистої сполучної тканини (ПВСТ), а на межі з'єднання «кінець-у-кінець» КМ утворювали вставні диски. Для м'язової тканини серця характерна велика кількість мітохондрій, які були розташовані біля ядра. Цей факт показує, що серце здатне до безперервної діяльності. Мітохондрії є носіями великої кількості енергії та ферментів, які беруть участь в окисно-відновних процесах.

Другим компонентом тканин шлуночків серця був інтерстицій міокарда шлуночків (ІМШ). Він був представлений пухкою волокнистою сполучною тканиною ПВСТ. В ІМШ виділяються три складові, а саме прошарки: ендомізій, перимізій і епімізій. Клітинний компонент був представлений клітинами фібробластичного ряду на різних етапах диференціювання, ліпоцитів та мігруючих клітин. Волокнистий компонент ПВСТ був представлений колагеновими волокнами КВ та еластичними волокнами (ЕВ)

КВ розміщувалися паралельно напрямку КМ, що забезпечує його скорочувальну функцію. А між КВ знаходилися ЕВ, але їх кількість була значно менша.

Ендомізій, в якому колагенові волокна огортали кожний КМ та створювали прошарок в якому він скорочуються. Колагенові волокна розташовувалися паралельно КМ. Ці волокна, в свою чергу, формували розташування судинно-нервових елементів таким чином, що вони знаходилися паралельно КМ (рис 3.1), для забезпечення трофіки.

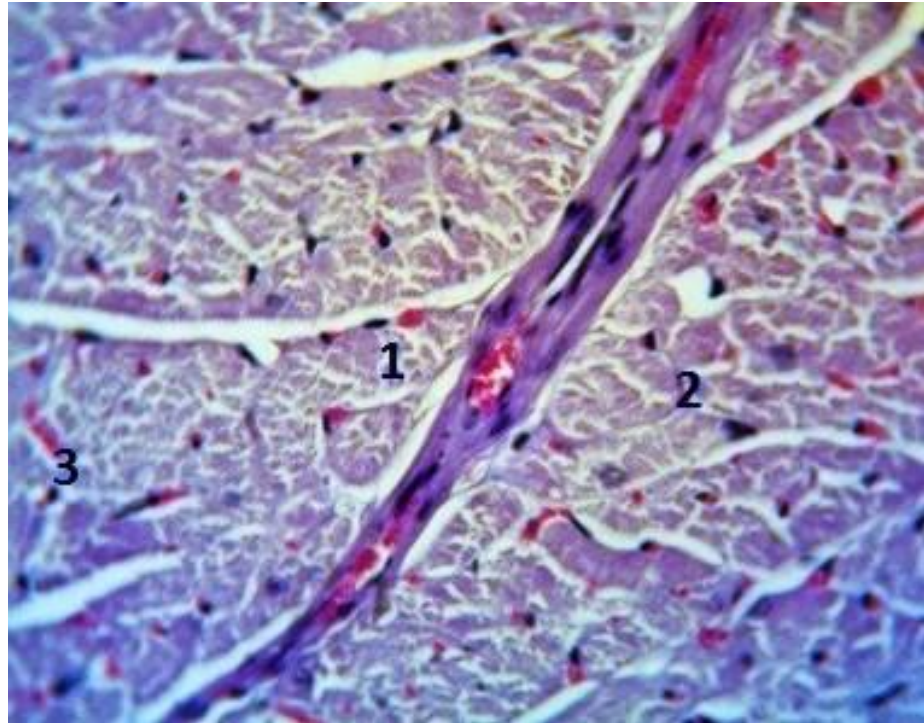


Рис 3.1. Ендомізій ІМШ контрольної групи тварин.

1 – кардіоміоцит; 2 – ендомізій; 3 – капіляр.

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

Перимізій – також складався з ПВСТ, але на відміну від епімізія, вкривав групи КМ і відрізнявся від ендомізія більш широким простором (рис 3.2). Крім сполучно-тканинного і клітинного компонентів тут розташовуються артеріоли та венули ГМЦР шлуночків серця.

Епімізій – огортав в цілому міокард шлуночків серця та своїми сполучнотканинними волокнами прилягав до базальної мембрани ендокарда, а також до зовнішньої оболонки серця – епікарда (рис 3.3).

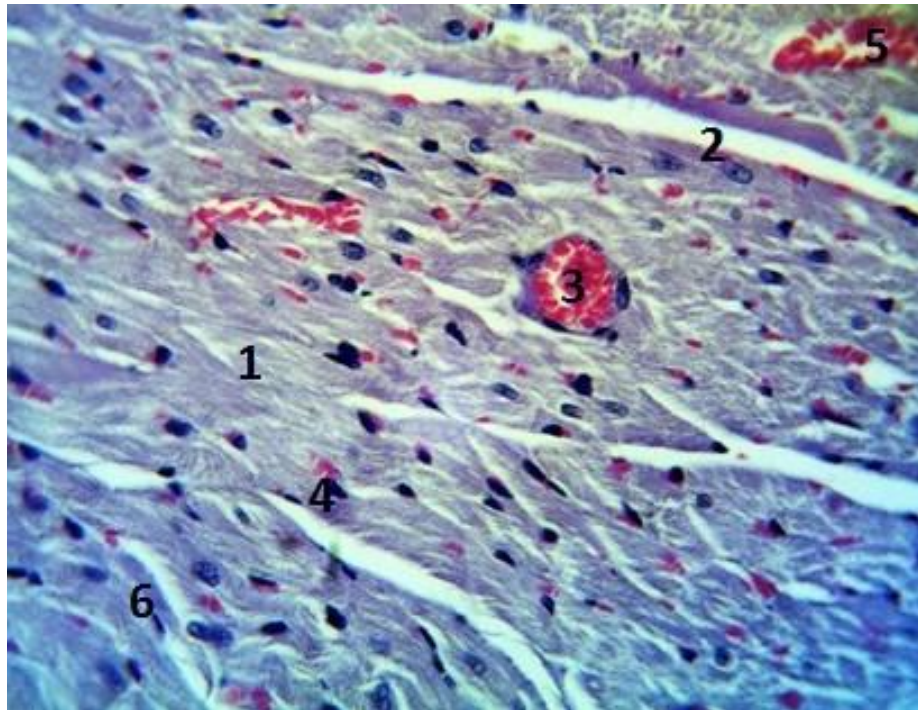


Рис 3.2. Перимізій ІМШ контрольної групи тварин.
 1 – кардіоміоцит; 2 – перимізій; 3 – артеріола; 4 – капіляр; 5 – венула; 6 – фібробласт. Зabarвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

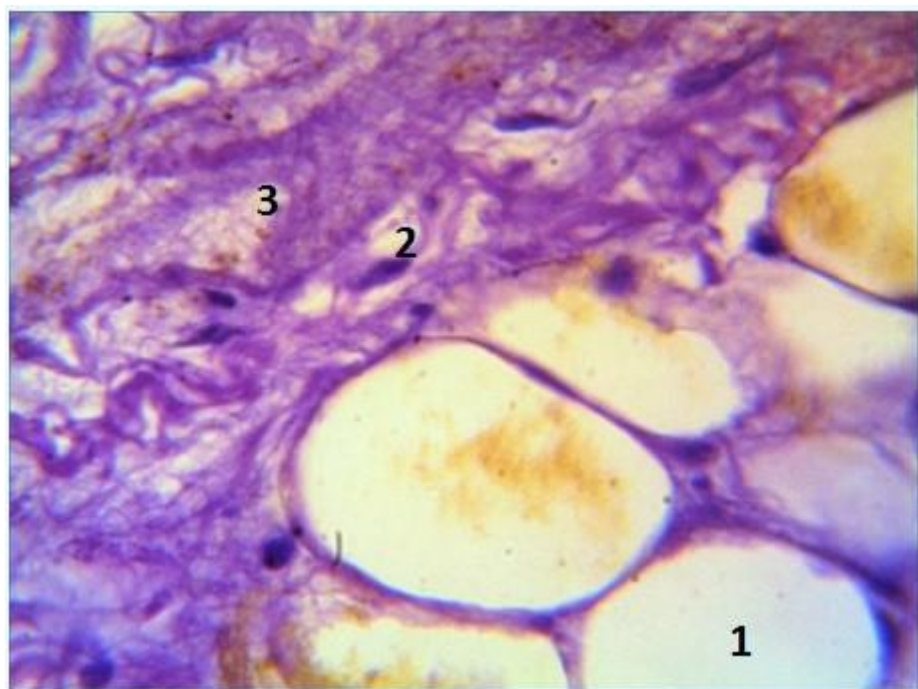


Рис 3.3. Епімізій ІМШ контрольної групи тварин.
 1 – адипоцит; 2 – фібробласт; 3 – колагенові волокна.
 Зabarвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 10.

Клітинний компоненти ІМШ був представлений резидентними та мігруючими клітинами. Більшу частину в клітинній популяції склали фібробласти (ФБ), які були основною для клітинно-тканинного каркасу . Крім того, в ПВСТ виявлялись і міофібробласти (МФБ), яких значно менше, а також тканинні базофіли (ТБ) - стабільні, макрофаги, ліпоцити та лімфоцити, яких були одиниці в полі зору (рис 3.4).

При мікроскопічному дослідженні фібробластів встановлено, що візуально виявляються клітини різні за розміром формаю як власне клітини так і внутрішньоклітинних компонентів, що свідчить про різний ступень диференціювання цих клітин.

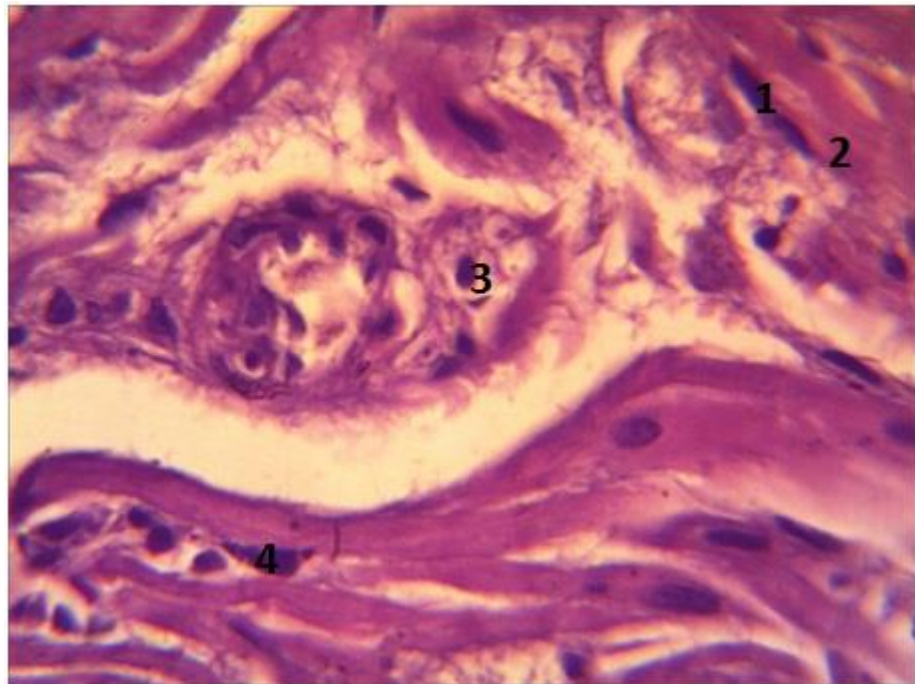


Рис 3.4. Клітинний компонент ІМШ

1 – фібробласти; 2 – колагенові волокна; 3 – лімфоцит; 4 – макрофаг
Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 100. Ок 15.

Крім того, між КМ і артеріолою знаходилися ФБ. МФБ, ТБ, макрофаги, лімфоцити та ліпоцити також були на різних термінах диференціювання. Особливо це характерно для ТБ. Вони були зрілими та незрілими і особливо часто зустрічалися дегранульовані клітини (Рис 3.5).

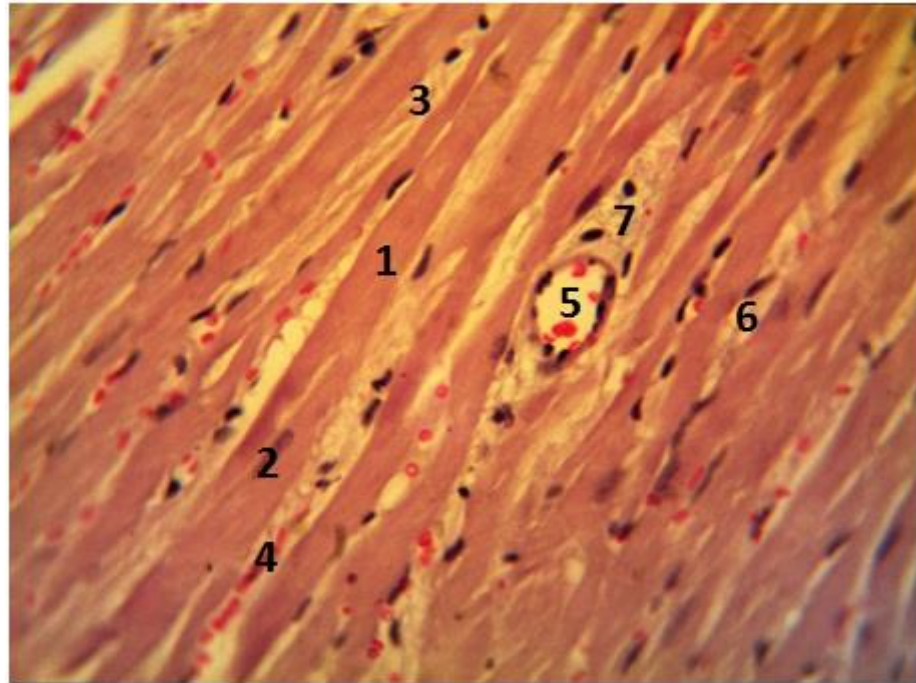


Рис 3.5. Клітинний компонент ІМШ.

1 – кардіоміоцит; 2 – ядро кардіоміоцит; 3 – прошарки сполучної тканини; 4 – капіляр; 5 – артеріола 6 – фібробласт; 7 – лимфоцит.

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

Ліпоцити мали звичайну будову та розміри. Макрофаги в ПВСТ ІМШ контрольної групи тварин були розташовані поодинокі і зустрічалися вкрай рідко. До складу ІМШ входять судино-нервові утворення. До останніх відносяться судини ГМЦР (артеріоли, капіляри, венули) та нерви.

Результати статистичного аналізу представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Кількісна характеристика діаметрів ГМЦР в групі контролю

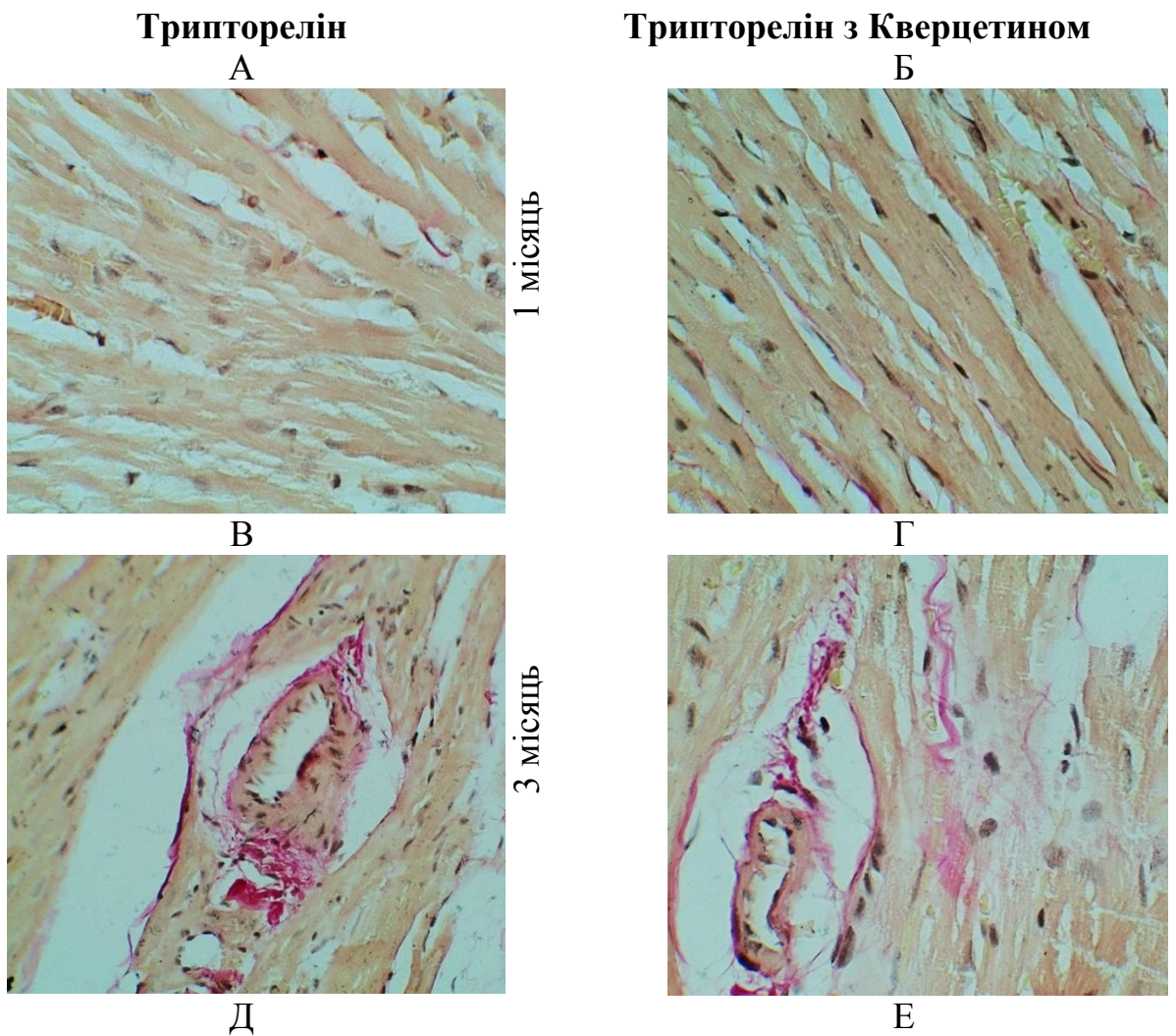
Ланки ГМЦР	Діаметри в мкм (M±m)		
	Артеріоли	Капіляри	Венули
Контроль	37.96±1.02	12.37±0.33	48.03±1.34

Аналіз показав, що артеріолярна ланка суттєво більша від капілярної при $P < 0.05$. В той же час вона суттєво менша венозної ланки при $P < 0.05$.

3.2. Реакція структурних компонентів ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином у щурів

3.2.1. Характеристика сполучно-тканинного компонента ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином

На серії гістологічних препаратів забарвлених гематоксиліном-еозином та за Ван Гізоном нами було виявлено, що ІМШ у I та II експериментальних групах щурів був представлений ПВСТ. Як і в контрольній групі в ІМШ виділялися три прошарки: ендомізій, перимізій і епімізій (Рис 3.6).



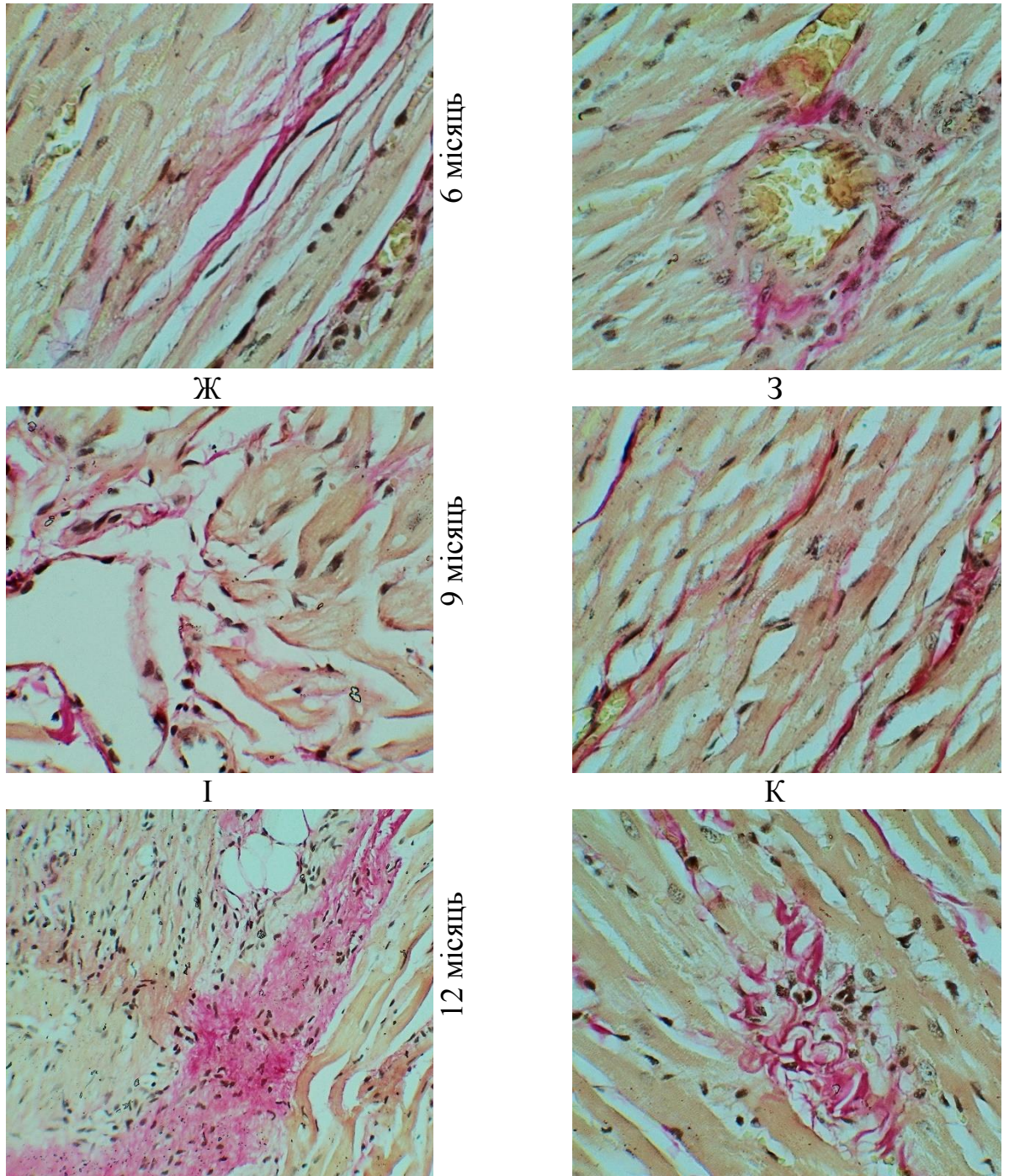


Рис. 3.7. Зміни сполучнотканинного компоненту ІМШ в ендомізії, перимізії та епімізії. Колагенові волокна рожевого кольору в експериментальній групі (Т- трипторелін) тварин (А на 1 місяць; В – 3 місяць; Е – 6 місяць; Д – 9 місяць; Ж – 12 місяць експерименту), в експериментальній групі тварин (Трипторелін та Кверцетин (Б – 1 місяць; Г – 3 місяць; Е- 6 місяць; З – 9 місяць; К – 12 місяць експерименту).

Забарвлення Ван Гізон, збільшення x400.

На напівтонких серійних парафінових зрізах ці прошарки візуалізувалися, в деяких випадках, тоншими або товщими. Вони були виповнені колагеновими волокнами та мали виражену клітинну популяцію, які чітко візуалізувалися на серії мікропрепаратів червоним кольором (рис.3.6.). Така картина була характерною для всіх термінів дослідження.

При гістологічному дослідженні напівтонких зрізів забарвлених за Ван Гізоном міокарду шлуночків двох експериментальних груп нами було встановлено, що патологічні зміни які виникли в ІМШ мали стадійний та локальний характер. Так, перші зміни візуально були виявлені нами вже на 30-ту добу спостереження (рис. 3.6 А,Б), що візуально проявлялось збільшенням сполучнотканинного компоненту біля коронарних судин ендомізія. Клітинна інфільтрація відсутня. Товщина міофібрилярних пучків була збережена. Периваскулярний набряк, який ми виявляли і на 90-ту добу спостереження в обох експериментальних групах характеризувався різницею кількості в кількості відкладень навколо судин (рис 3.6 В,Г.). Пучки міофібрил мали хвилястість. Виявлялась неоднорідність в структурі міофібрил.

На 6 та 9 місяці спостереження, в обох експериментальних групах, периваскулярний набряк характеризувався залучанням в патологічний процес окрім клітинного, ще і сполучнотканинного компонентів ІМШ. Ці зміни проявлялись набряком прошарків ендомізія, за відсутності пошкодження кардіоміоцитів. Ця активація відбувається за рахунок введення триптореліну і являло собою процеси пошкодження в них (рис. 3.6 Д,Е), в той же час воно зберігає конфігурацію інтерстиційних структур.

Визначаються зони міофібрилярної дегенерації і ділянки з розволокненням із хвилеподібною звивистістю як поодиноких (рис. 3.6 Ж), так і окремих груп м'язових волокон, а також відзначалася нерівномірність їх забарвлення фоновими барвниками (рис. 3.6 З).

На 12 місяць спостереження визначались зміни інтерстицію міокарда шлуночків в ендомізії та перимізії. Перимізій подекуди набуває суттєвої

перебудови, як на рис. (рис. 3.6 I,K). Матрикс інтерстицію неоднорідний подекуди щільний або розпушений. Зустрічається звуження міофібрилярних пучків.

Описані вище морфологічні прояви характерні і при введенні триптореліну з кверцетином, але вони візуально менше проявляються.

Таким чином, введення триптореліну з кверцетином являється корегуючим чинником від наслідків, які характерні при введенні триптореліну, тобто блокаді рилізінг гормонів.

На гістологічних препаратах забарвлених гематоксилін-еозином чітко диференціювався сполучно-тканинний компонент в вигляді прошарків. В одних випадках прошарки окутували кожний кардіоміоцит з судинами капілярного типу – це був ендомізій. В других – прошарки вкривали групи кардіоміоцитів з судинним компонентом арвеоларно-венулярного типу. Це був перимізій.

Ендомізій огортав кожний КМ та створював прошарок в якому він скорочується. Колагенові волокна розташовуються паралельно КМ. Ці волокна, в свою чергу, формували розташування судинно-нервових елементів, тобто паралельно КМ.

При введенні триптореліну на гістологічних препаратах візуально спостерігалось збільшення цього простору. Найбільш виражене збільшення проявлялось на 3-6 місяці спостереження. На 9-12 місяці спостереження виявлялось зменшення ширини ендомізія.

В групі, при введенні триптореліну з кверцетином, нами встановлено також збільшення ширини ендомізія, яке проявлялось на 3-12 місяці спостереження (рис 3.7).

Перимізій – також складається ПВСТ, але на відміну від епімізія, оточує групи КМ і відрізняється від ендомізія більш широким простором (Рис 3.8).

В I та II експериментальних групах нами відмічалось візуально не визначене збільшення або зменшення ширини перимізія на всіх термінах дослідження.

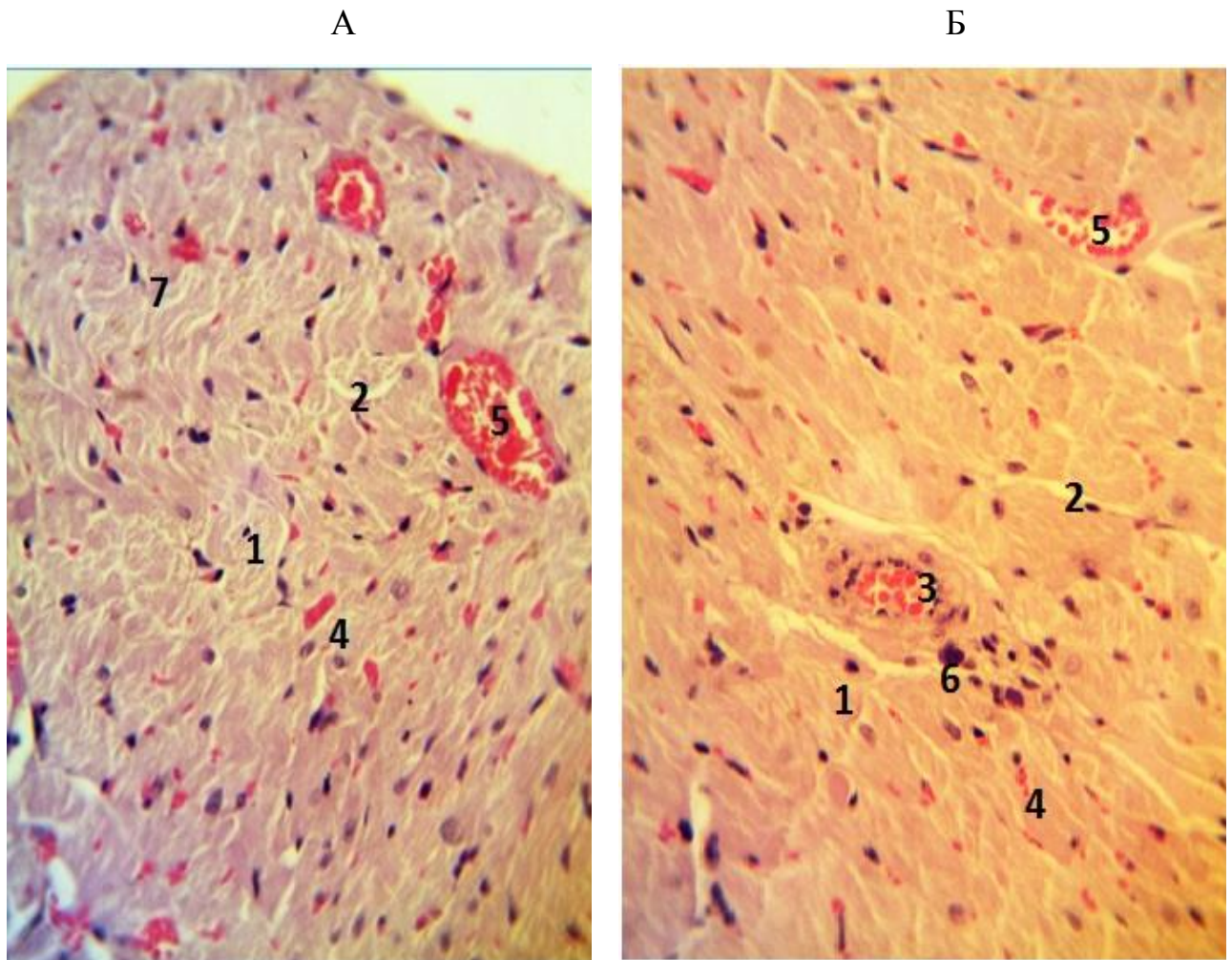


Рис 3.7. Ендомізій ІМШ.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 – кардіоміоцит; 2 – ендомізій; 3 – артеріола; 4 – капіляр; 5 – венула; 6 – фібробласт; 7 – тканинний базофіл; 8 – фібробласт.

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

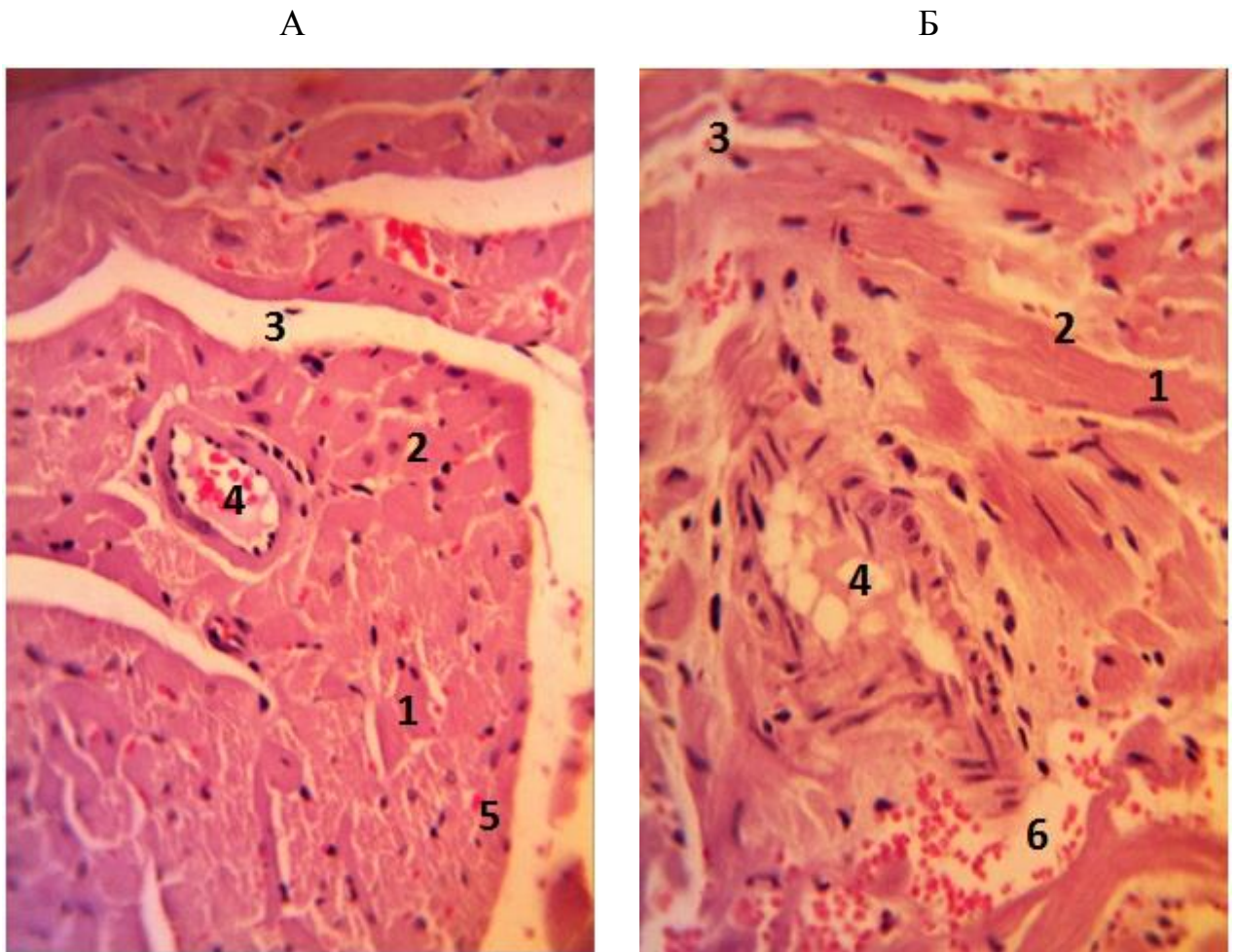


Рис 3.8. Перимізій ІМШ.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 –кардіоміоцит; 2 – ендомізій; 3 – перимізій; 4 – артеріола; 5 – капіляр;
6 – венула;

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

Епімізій – огортає в цілому міокард та своїми колагеновими волокнами влітається в базальну мембрану ендокарда, а також прилягає до зовнішньої оболонки серця – епікарда (Рис 3.8). Виявлення, скільки-небудь, візуальних змін ширини епімізія нами не встановлено.

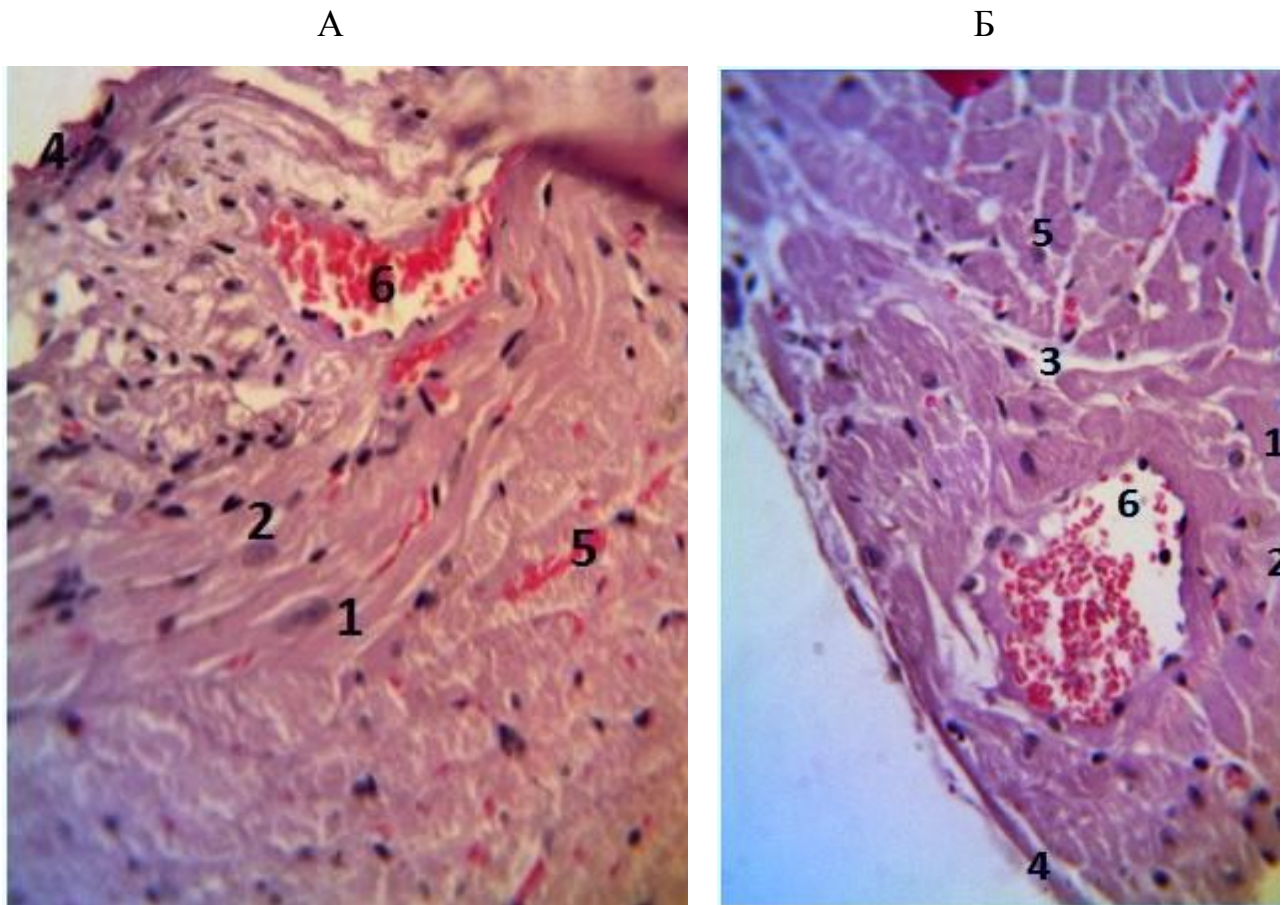


Рис 3.9. Епімізій ІМШ.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 –кардіоміоцит; 2 – ендомізій; 3 – перимізій; 4 – епімізій 5 – капіляр; 6 – венула;

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

3.2.2. Характеристика клітинного компонента ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином

Клітинний компонент ПВСТ ІМШ представлений популяцією резидентних та мігруючих клітин. До групи резидентних клітин відноситься основна популяція, яка складає переконливу більшість, ФБ, МФБ і фіброцити. Ними заповнено практично повністю поле зору на гістологічних препаратах. Візуально неможливо диференціювати зменшення, чи збільшення цих клітин в обох експериментальних групах та їх кількісну різницю на кожний термін дослідження. Лише можливо стверджувати, той факт, що ці клітини являються продуцентами колагену за даними літературних джерел. Візуально нами диференціювалися на різних стадіях розвитку і деградації малодиференційовані юні та зрілі ФБ, МФБ (рис 3.9).

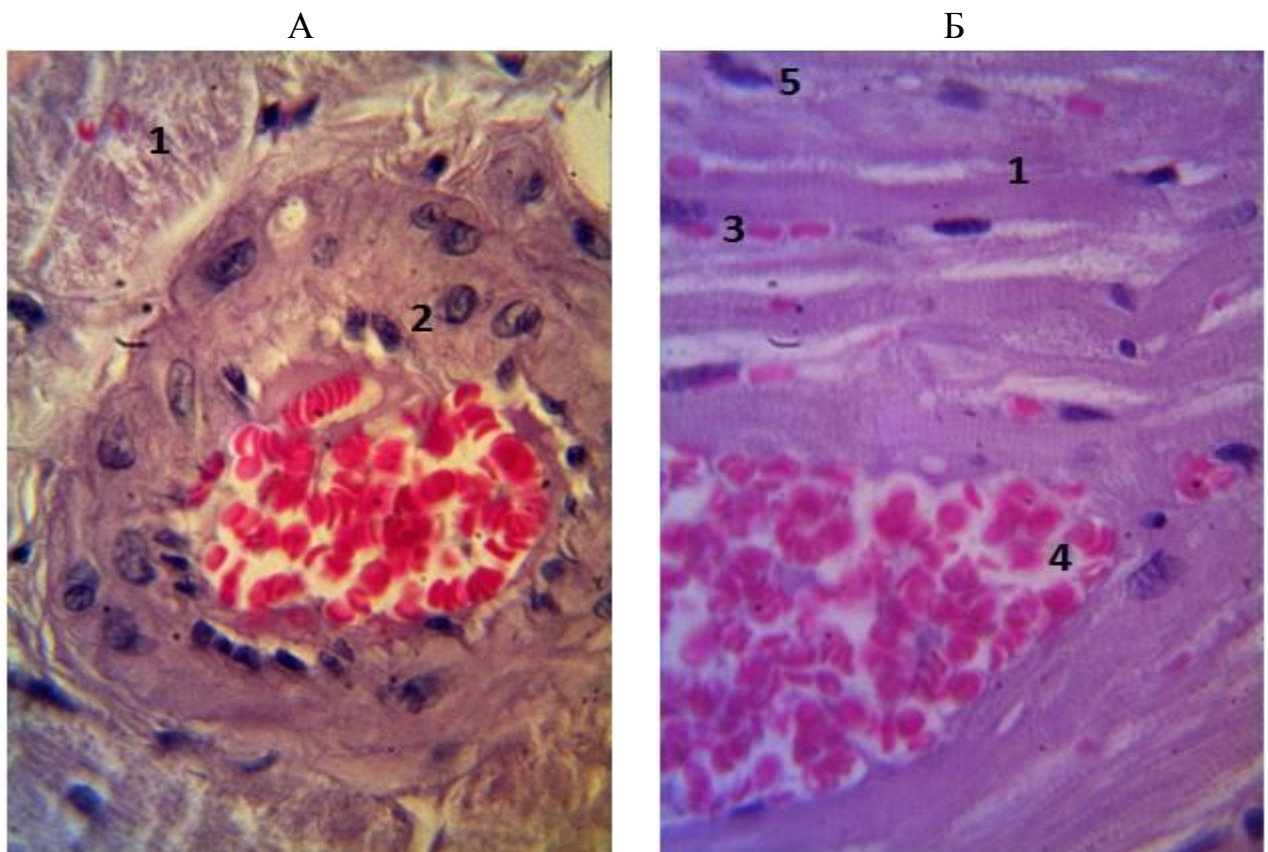


Рис 3.10. Клітинний компонент ІМШ.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 – кардіоміоцит; 2 – артеріола; 3 – капіляр; 4 – венула; 5 – фібробласт

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 40. Ок 15.

Значно менше, за кількістю, в полі зору виявляються мігруючі клітини. Найбільш вираженими, візуально, це були ТБ. Як правило, вони візуалізувались зрілими та дегранулюючими (рис 3.10).

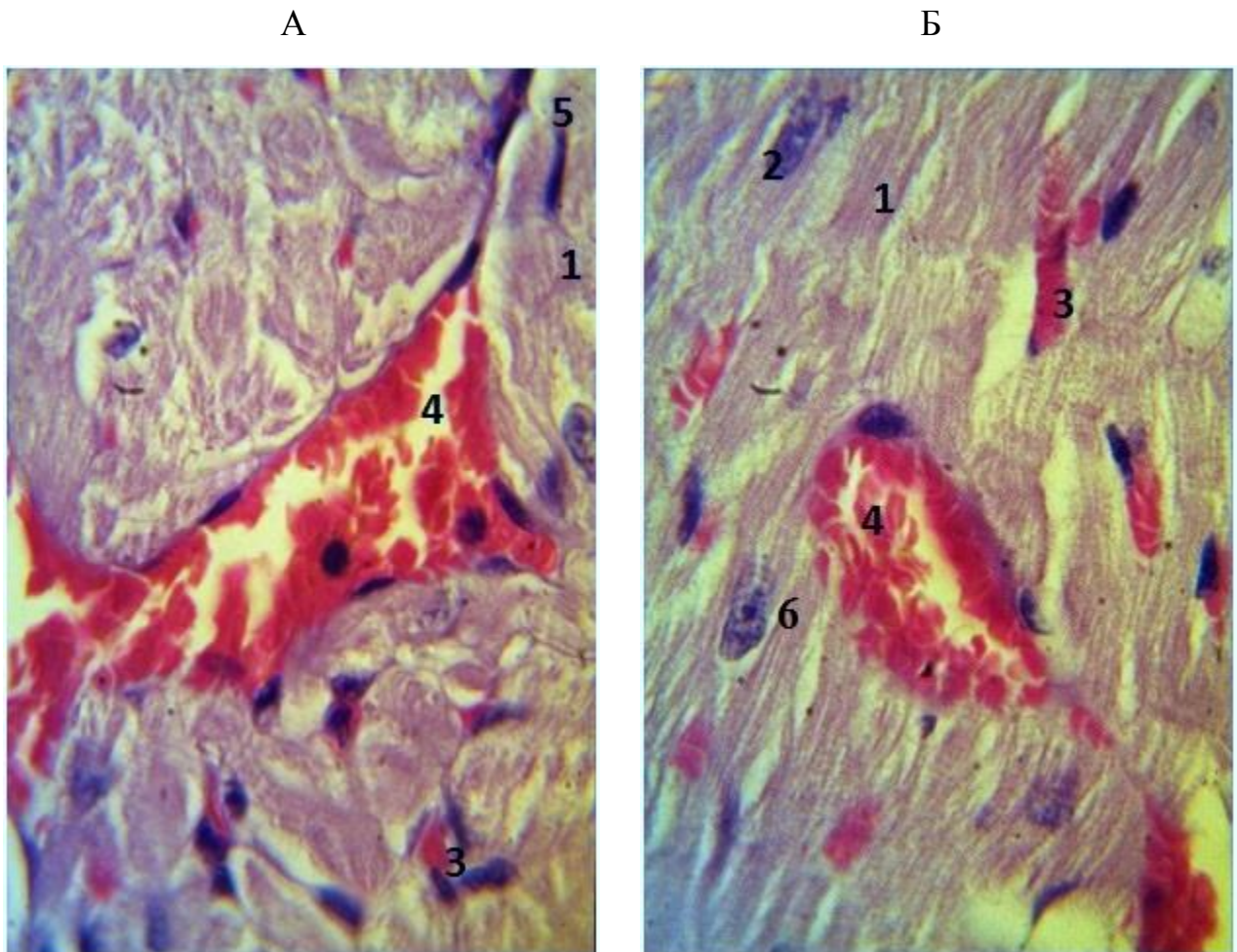


Рис 3.10. Клітинний компонент. ТБ ІМШ експериментальних груп.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 – кардіоміоцит; 2 – ядро кардіоміоцита; 3 – капіляр; 4 – венула; 5 – фібробласт, 6 – тканинний базофіл

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 100. Ок 15

Серед мігруючих клітин ІМШ виявлялись макрофаги на різній ступені диференційовки. Треба відмітити, що найбільша кількість виявлялась на 9-12 місяцях дослідження в обох експериментальних групах. Також звертає на себе увагу, що візуально виявлялись розпадаючі форми макрофагів (рис 11).

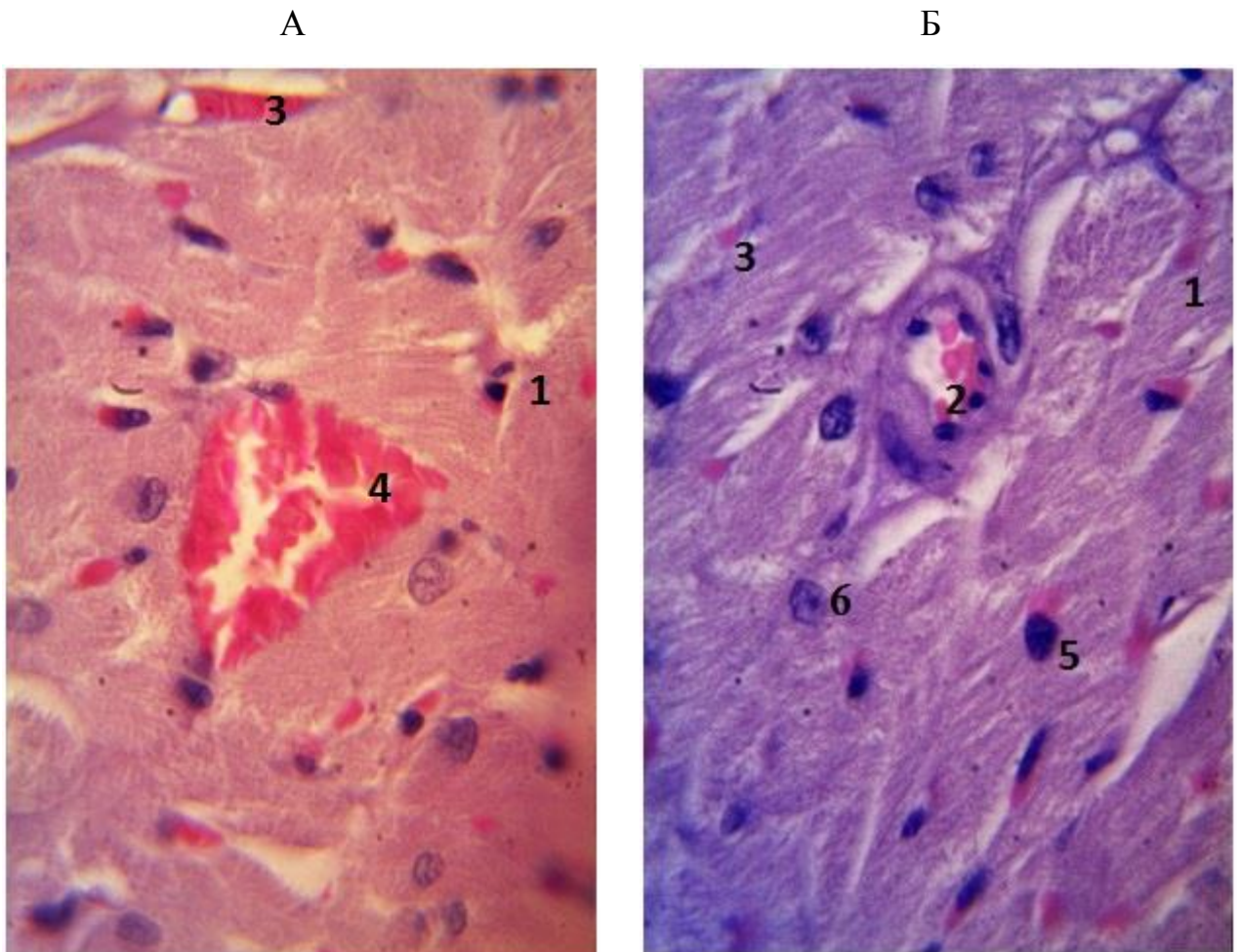


Рис 3.12. Клітинний компонент. Макрофаги ІМШ експериментальних груп.

А – введення триптореліну; Б – введення триптореліну і кверцетину.

1 – кардіоміоцит; 2 – артеріола; 3 – капіляр; 4 – венула; 5 – лімфоцит; 6 - макрофаг

Забарвлення гематоксилін-еозин. Об 100. Ок 15.

Нами встановлено, також жирові клітини на різних стадіях диференційовки. А також, починаючи з 9 місяця спостереження, поява лімфоїдних та плазматичних клітин.

3.3. Характеристика ГМЦР ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином

При вивченні нами мікроскопічної організації міокарда шлуночків тварин, як вказувалось раніше, у I та II групах на гістологічних препаратах при забарвленні гематоксилін-еозином чітко визначався скорочувальний апарат та сполучно-тканинний компонент. Скорочувальний апарат був представлений КМ. Сполучно-тканинний компонент ІМШ в свою чергу був представлений клітинами ПВСТ і міжклітинний матриксом (колагеновими волокнами) між яким виявлялись судини різного калібру (рис 3.12).

Міжклітинний сполучнотканинний компонент міокарда мав складну форму і організацію, яка змінювалась в залежності від реакції на введення триптореліна та триптореліна в поєднанні з кверцетином. Візуальний аналіз міокарда шлуночків показав різноманіття в кількістному та якісному вигляді артеріолярних, капілярних та венулярних ланок ГМЦР.

Візуально на гістологічних препаратах артеріолярні і венулярні ланки знаходились в інтерстиційному просторі перимізія, тобто в сполучній тканині між кардіоміоцитами шлуночків. А капілярна ланка практично була занурена в самі скупчення кардіоміоцитів, тобто ендомізія (рис 3.12.А, 3.12.Б, 3.12.В).

З метою об'єктивізації отриманих даних діаметрів судин ГМЦР ІМШ нами проведений статистичний аналіз порівняння реакції судин при введенні триптореліну (I група) та триптореліну з кверцетином (II група). Дані статистичного аналізу представлені в таблиці 3.2. Як видно з таблиці показники діаметрів артеріальної, капілярної та венулярної ланок ГМЦР протягом всіх термінів дослідження змінюються не однаково. В той же час, порівняння цих показників на різних термінах дослідження з групою контролю, також змінюється по-різному.

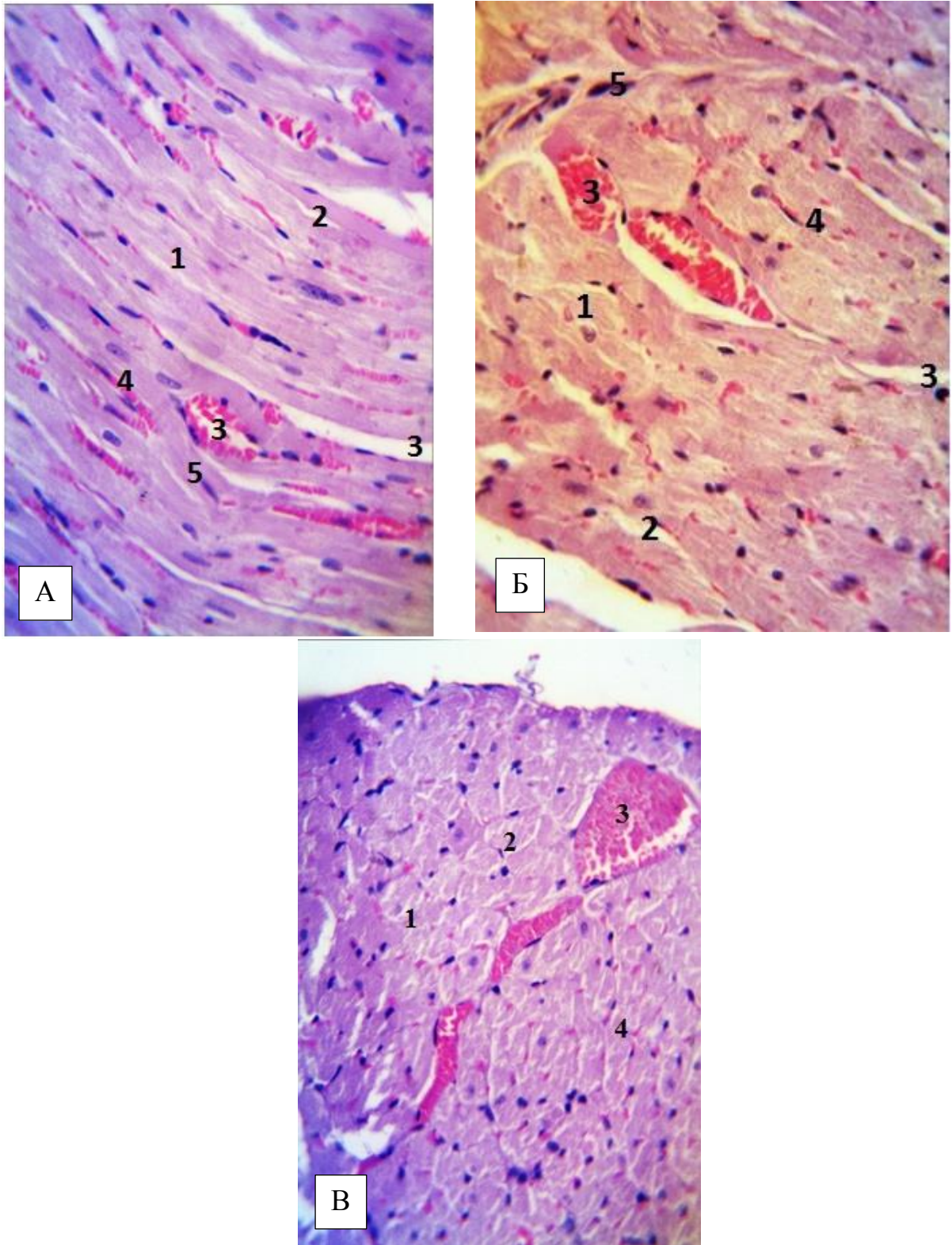


Рис 3.1. ГМЦР ІМШ. А – група контролю; Б – група при введенні триптореліну; В – група при введенні триптореліну і кверцетину

1 – кардіоміцит; 2 – ендомізії; 3 – венула; 4 – капіляр; 5 – фібробласт.

Забарвлення гематоксилин-еозин. Об 40. Ок 15.

З метою об'єктивізації отриманих даних діаметрів судин ГМЦР ІМШ нами проведений статистичний аналіз порівняння реакції судин при введенні триптореліну (І група) та триптореліну з кверцетином (ІІ група). Дані статистичного аналізу представлені в таблиці 3.2. Як явствує з таблиці показники діаметрів артеріальної, капілярної та венулярної ланок ГМЦР протягом всіх термінів дослідження змінюються не однаково. В той же час порівняння цих показників на різних термінах дослідження з групою Контроля, також змінюється по-різному.

Таблиця 3.2

Діаметри ланок ГМЦР ІМШ при введенні ТРИПТОРЕЛІНУ (Т) та ТРИПТОРЕЛІНУ З КВЕРЦЕТИНОМ (Т+К) в мкм ($M \pm m$)

Терміни	Артеріоли		капіляри		венули	
	Т	Т+К	Т	Т+К	Т	Т+К
К	37,96±1,02		12,37±0,33		48,03±1,34	
1 м	43,22±1,09	38,04±1,23	15,33±1,02 #	12,04±0,39 *	49,22±2,12	44,12±2,07
3 м	53,45±2,03 #	42,33±1,33 *	18,44±1,54 #	15,13±0,54 **	57,62±2,08 #	50,55±1,98 *
6 м	76,91±2,93 #	89,91±3,03 **	20,01±3,41 #	19,21±1,05	82,23±3,09 #	90,05±3,74 **
9 м	80,71±3,12	76,33±2,17 **	16,91±2,73 #	14,49±0,73	75,77±4,08 #	78,77±3,08 #
12 м	42,34±2,56	76,44±1,09 *	12,33±0,98	15,49±0,76 **	59,01±3,04 #	72,23±2,04 **
Примітка: порівняння К та терміни # <0.05; порівняння Т та Т+К * <0.05.						

Артеріолярна ланка ГМЦР була представлена артеріолами. Як видно (табл 3.2), досліджений нами параметр – діаметр артеріол протягом експерименту в групі тварин яким вводили трипторелін змінювався неоднаково. Так проведений нами математичний аналіз показників ГМЦР показав, що на 1-й місяць виявлялось, збільшення показника в обох

експериментальних групах, але це збільшення було не достовірне при порівнянні з контрольною групою щурів. На 3-й місяць дослідження виявлялось суттєве збільшення діаметра артеріол. Через 6-ть місяців спостереження виявлялось різке суттєве збільшення їх діаметрів. На 9-й місяць спостереження воно достовірно не відрізнялось від попереднього терміну. На кінець експерименту, 12-й місяць визначавсь різким зменшення діаметрів. В той же час, при порівнянні з групою контролю цей показник був більший, але достовірно не відрізнявся.

При аналізі показника діаметрів артеріол в групі тварин, яким на тлі введення триптореліну вводився кверцетин (табл 3.2) нами встановлено, що цей показник на 1-й місяць достовірно не відрізнявся від аналогічного в групі контролю. На 3-й місяць спостереження виявлялось не значне збільшення цього параметру, але достовірність різниці була не суттєва як при порівнянні з попереднім терміном так і з контрольною групою. На 6-й місяць дослідження виявлялось різке збільшення діаметрів артеріол. На 9-й місяць виявлялось суттєве зменшення діаметрів. На 12-й місяць цей показник суттєво не відрізнявся від попереднього терміну.

Порівнюючи показники діаметрів резистивної ланки ГМЦР в групах тварин, яким вводився трипторелів і трипторелін з кверцетином (табл 3.2) нами встановлено, що суттєва різниця в діаметрах виявлялась починаючи з 3-го місяця спостереження. Так діаметр резистивної ланки був достовірно більший в групі при введенні триптореліну. А на 6-й місяць спостереження цей показник був суттєво більшим в групі тварин, яким на тлі триптореліну вводили кверцетин. На 9-й місяць показники діаметрів в цих групах суттєво не відрізнялися. На 12-й місяць дослідження показник діаметрів резистивної ланки був суттєво більшим в групі тварин, яким вводився кверцетин на тлі введеного триптореліна.

Аналіз діаметрів капілярної ланки ГМЦР (табл 3.2), в групі тварин, яким вводився трипторелін показав, що на 1-й місяць спостереження діаметри виявлялось суттєве збільшення при порівнянні з групою контролю.

На 3-й місяць, також визначалось достовірне збільшення діаметрів при порівнянні з попереднім терміном. На 6-й місяць визначалось збільшення цього показника при порівнянні з попереднім терміном, але це збільшення було не суттєвим. На 9 місяць виявлялось зменшення діаметрів обмінної ланки, але це зменшення було не достовірним в порівнянні з попередніми термінами дослідження. На 12-й місяць діаметри капілярної ланки зменшились по аналогічних показників в групі контролю.

Аналіз показника діаметра капілярної ланки в групі тварин, яким на тлі введення триптореліна вводився кверцетин показав (табл 3.2), що на 1-й місяць показник практично дорівнював аналогічному в групі контролю. На 3-й місяць спостереження діаметри обмінної ланки достовірно були більшими при порівнянні з попереднім терміном. На 6-й місяць спостереження нами було встановлено також достовірне збільшення показника при порівнянні попереднім терміном. На 9-й місяць діаметри обмінної ланки суттєво зменшувались. На 12-й місяць показник діаметра капілярної ланки був декілька вищим, чим в попередньому терміні, але це збільшення було не суттєвим.

Порівнюючи показник діаметра обмінної ланки ГМЦР в групах тварин яким вводився трипторелін та на тлі триптореліна кверцети, нами встановлено, що на 1-й та 3-й місяці спостереження в групі з триптореліном діаметри були достовірно більшими. На 6-й та 9-й місяці спостереження діаметри в групі тварин, яким на тлі триптореліну вводився кверцетин були меншими, але це зменшення було не суттєвим.

Статистичний аналіз показників діаметрів венулярної ланки ГМЦР (табл 3.2) показав, що в групі тварин, яким вводився трипторелін на 1-й місяць спостереження виявлялось не достовірне збільшення цього показника при порівнянні з групою контролю. На 3-й місяць нами встановлено достовірне збільшення діаметрів венулярної ланки. На 6-й місяць виявлялось різке збільшення діаметрів в порівнянні з попереднім терміном. На 9-й місяць виявлялось деяке зменшення показника при порівнянні з попереднім

терміном, але це зменшення було не достовірним. На 12-й місяць нами встановлено достовірне зменшення цього показника при порівнянні з попереднім терміном дослідження. В той же час цей показник був достовірно вищим чим в групі контролю.

Аналіз діаметрів венулярної ланки ГМЦР в групі тварин, яким на тлі введення триптореліна вводили кверцетин (табл 3.2) показав, що на 1-й місяць спостереження цей показник декілька зменшувався, але при порівнянні з групою контролю це зменшення було не суттєвим. На 3-й місяць спостереження цей показник достовірно збільшився при порівнянні з попереднім терміном. На 6-й місяць нами встановлено достовірне різке збільшення діаметрів. На 9-й місяць відмічалось зменшення діаметрів венулярної ланки. Це зменшення було достовірним в порівнянні з попереднім терміном дослідження. На 12-й місяць також відмічалось зменшення діаметрів.

Порівнюючи показник діаметрів венулярної ланки в групах тварин, яким вводили трепторелін і групі в якій на тлі введення триптореліну вводили кверцетин, (табл 3.2) нами встановлено, що на 1 місяць різниця в діаметрах не суттєва. На 3 місяць діаметри венулярної ланки суттєво були меншими в групі з кверцетином. На 6-й та 9-й місяці ці показники в групах статистично не відрізнялись. Та тільки на 12 місяць діаметри в групі тварин з кверцетином були достовірно більшими.

3.4. Резюме:

1. Інтерстицій міокарда шлуночків щурів складається з трьох шарів: ендомізія, перимізія та епімізія. В свою чергу кожний шар представлений ПВСТ, яка має сполучно-тканинний і клітинний компоненти з елементами ГМЦР.

2. Сполучно-тканинний компонент представлений колагеновими і еластичними волокнами, які формують футляр для кардіоміоцита, що забезпечує скоротливу функцію останнього.

3. Клітинний компонент представлений резидентними (фібробластами, міофібробластами, ліпоцитами) та мігруючими (макрофагами, тканинними базофілами, лімфоцитами) клітинами.

4. ГМЦР ІМШ представлений артеріолярною (резистивною), капілярною (обмінною) та венулярною (емнісною) ланками. Артеріолярна та венулярна ланки знаходились в перимізії ІМШ, в той час, як капілярна ланка знаходилась в ендомізії.

5. Введення триптореліну та триптореліну з кверцетином призводило до збільшення прошарків сполучної тканини за рахунок набряку з послідуною перебудовою клітинного та тканинного компонентів в них, а саме розширення прошарків ПВСТ (ендомізії та перимізії), активації макрофагів та тканинних базофілів по типу асептичного запалення в ІМШ з явними проявами морфологічних ознак на всіх строках дослідження.

6. Реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшення кровонаповнення максимумом якого становить на 6-й місяць експерименту в обох експериментальних групах, але без порушення відтоку в групі з додаванням кверцитину.

7. Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень інтерстиційного простору та поєданого з ним ГМЦР при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник - серце». Дані про функціональну морфологію серця на етапах адаптації до змін ендокринної ланки, розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу міокарду шлуночків.

Матеріали даного розділу опубліковані у статті:

1. Voroshilova, T. A., Shepitko, V. I., Stetsuk, Y. V., Vilkhova, O. V., & Puzyryov, G. S. (2024). Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of

quercetin. *Reports of Morphology*, 30(3), 91-98.
[https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-09)

Тези доповіді:

1. Ворошилова Т. А. Характеристика гемомікроциркуляторного руслу міокарду шлуночків серця при введенні триптореліну / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (IV Жутаєвські читання), м. Полтава, 18-19 квітня 2024 р. – Полтава, 2024. – С. 10–11.

2. Ворошилова Т. Реакція мастоцитів сполучної тканини міокарда шлуночків при введенні триптореліну / Т. Ворошилова, В. Шепітько, Є. Стецук // Матеріали Всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю «Актуальні питання морфології», присвяч. 100-річчю від д. н. проф. Лева Михайловича Личковського, м. Львів, 17 травня 2024 р. – Львів, 2024. – С. 150–151.

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ КВЕРЦЕТИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В СЕРЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ

4.1. Вплив водорозчинної форми кверцетину на продукцію супероксидного аніон-радикалу в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця призводить до зниження базової продукції супероксидного аніон-радикалу (САР) в серці щурів на 8,8% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.1).

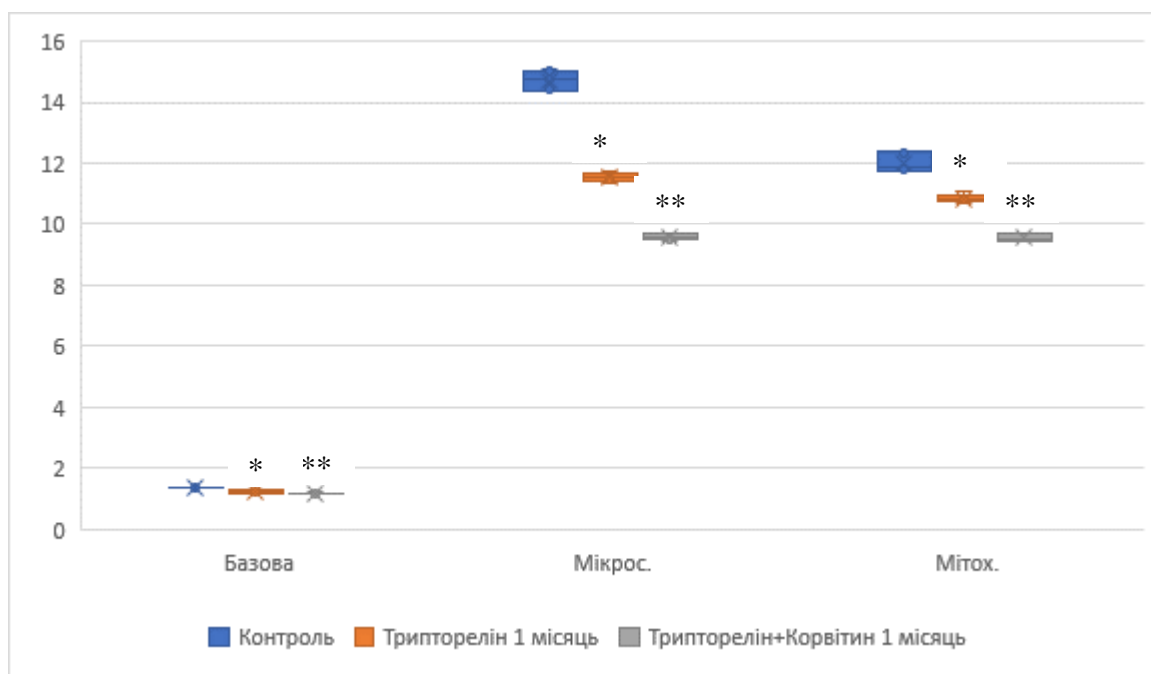


Рис 4.1. Продукція САР в серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Продукція САР від мітохондріального електроно-транспортного ланцюга (мтСАР) знижується на 9,9%, а від мікросомального електроно-транспортного ланцюга (мкСАР) на 21,6%. Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину (Корвітин, вКВЕ) та триптореліну протягом 1 місяця призводить до зниження базової продукції САР на 5,6%, мкСАР знижується на 16,7%, мтСАР знижується на 11,5% порівняно із результатами групи блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця.

Отже 1 місяць блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном не супроводжується розвитком надмірної продукції активних форм кисню.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців призводить до зростання базової продукції САР в серці щурів на 18,2% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.2).

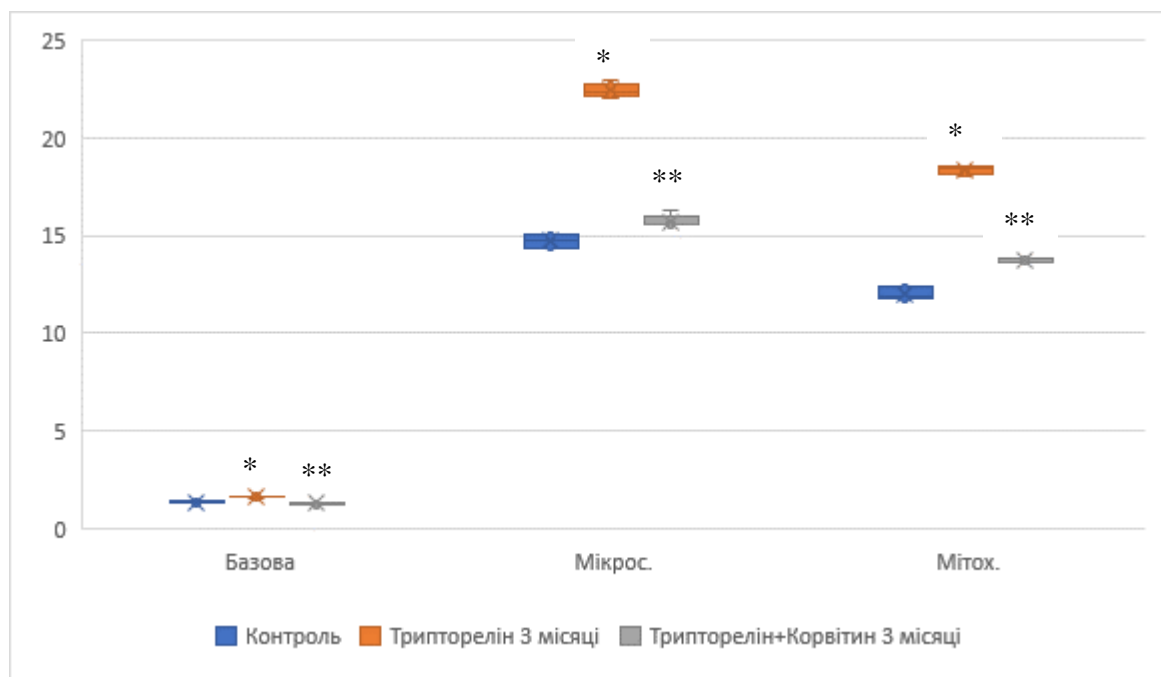


Рис 4.2. Продукція САР в серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

За умов 3 місяцевої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном мкСАР в серці щурів зростає на 52,5%, а мтСАР збільшується

на 52,4% при порівнянні із показниками контрольної групи щурів. Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців призводить до зниження базової продукції САР в серці щурів на 22,2%, мкСАР знижується на 29,9%, мтСАР знижується на 24,9% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців.

Отже 3 місяці блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном супроводжуються розвитком надмірної продукції активних форм кисню, а застосування вКВЕ ефективно у зниженні гіперпродукції вільних радикалів кисню.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців призводить до зростання базової продукції САР в серці щурів на 42,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.3).

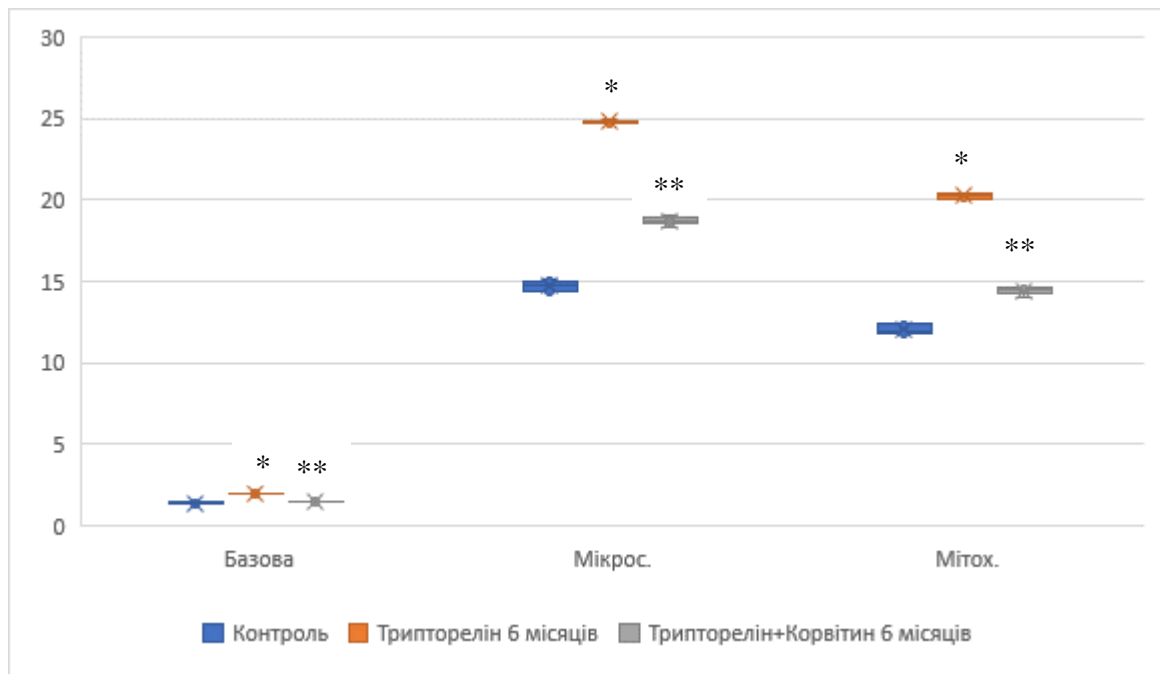


Рис 4.3. Продукція САР в серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

За умов 6 місяцевої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном мкСАР в серці щурів зростає на 68,6%, а мтСАР збільшується

на 68,4% при порівнянні із показниками контрольної групи щурів. Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців призводить до зниження базової продукції САР в серці щурів на 26,2%, мкСАР знижується на 24,4%, мтСАР знижується на 28,7% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців.

Отже вКВЕ ефективно знижує гіперпродукцію активних форм кисню індуковану введенням триптореліну протягом 6 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців призводить до зростання базової продукції САР в серці щурів на 32,8% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.4).

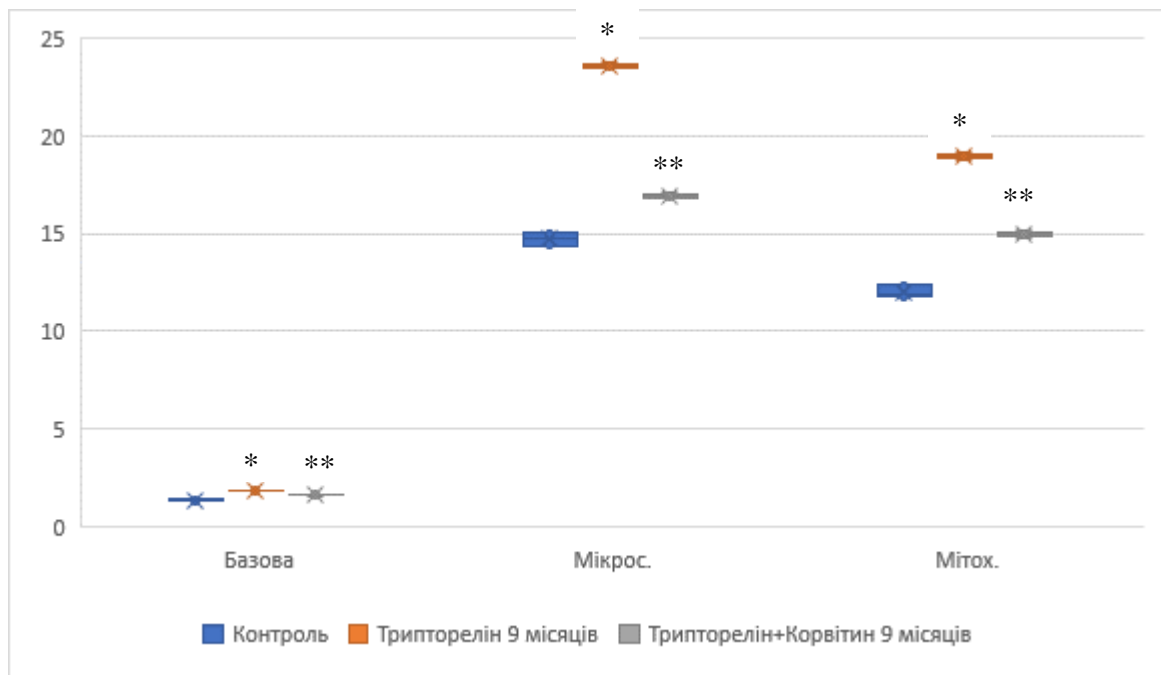


Рис 4.4. Продукція САР в серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+квервітин ($p < 0,05$).

За умов 9 місяцевої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном мкСАР в серці щурів зростає на 60,4%, а мтСАР збільшується на 57,8% при порівнянні із показниками контрольної групи щурів. Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9

місяців призводить до зниження базової продукції САР в серці щурів на 12,6%, мкСАР знижується на 28,3%, мтСАР знижується на 21,1% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців.

Отже, використання вКВЕ в якості засобу патогенетичної терапії надмірної продукції вільних радикалів в серці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців є ефективним.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців призводить до зростання базової продукції САР в серці щурів на 21,9% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.5).

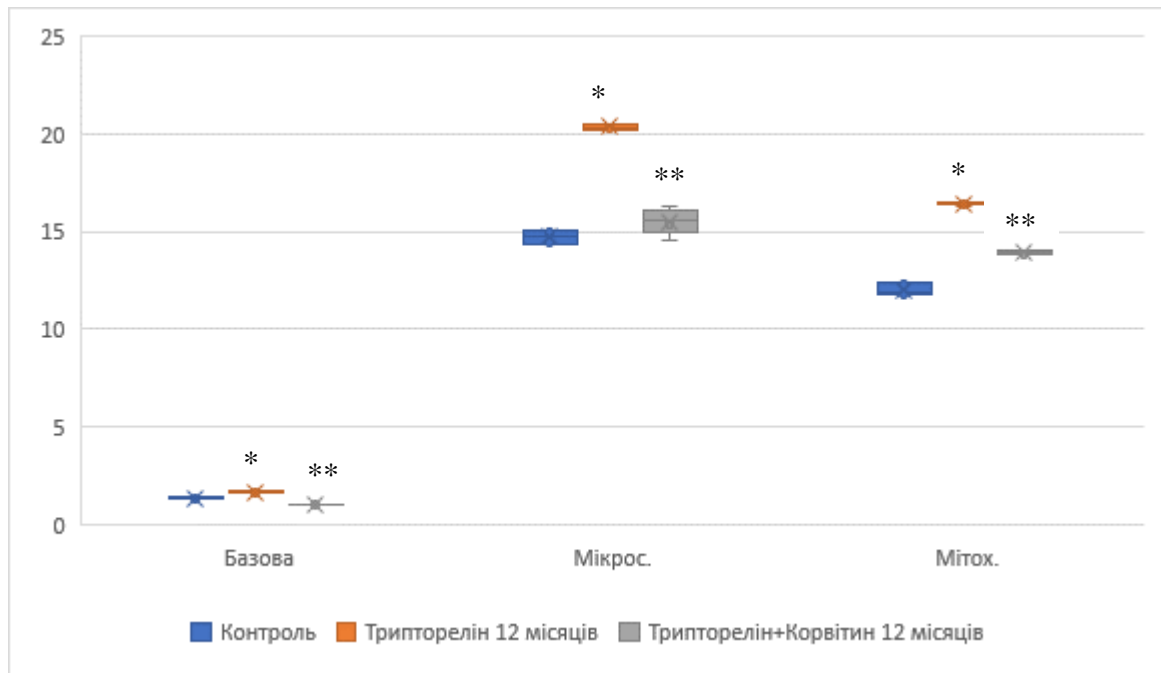


Рис 4.5. Продукція САР в серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

За умов 12 місяцевої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном мкСАР в серці щурів зростає на 38,3%, а мтСАР збільшується на 36,8% при порівнянні із показниками контрольної групи щурів. Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12

місяців призводить до зниження базової продукції САР в серці щурів на 40,1%, мкСАР знижується на 23,7%, мтСАР знижується на 15,3% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців.

Отже 12 місяців блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном супроводжуються розвитком надмірної продукції активних форм кисню, а застосування КВЕ ефективно у зниженні гіперпродукції вільних радикалів кисню.

4.2. Вплив водорозчинної форми кверцетину на активність антиоксидантних ферментів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця призводить до зростання активності СОД в серці щурів на 45,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.6).

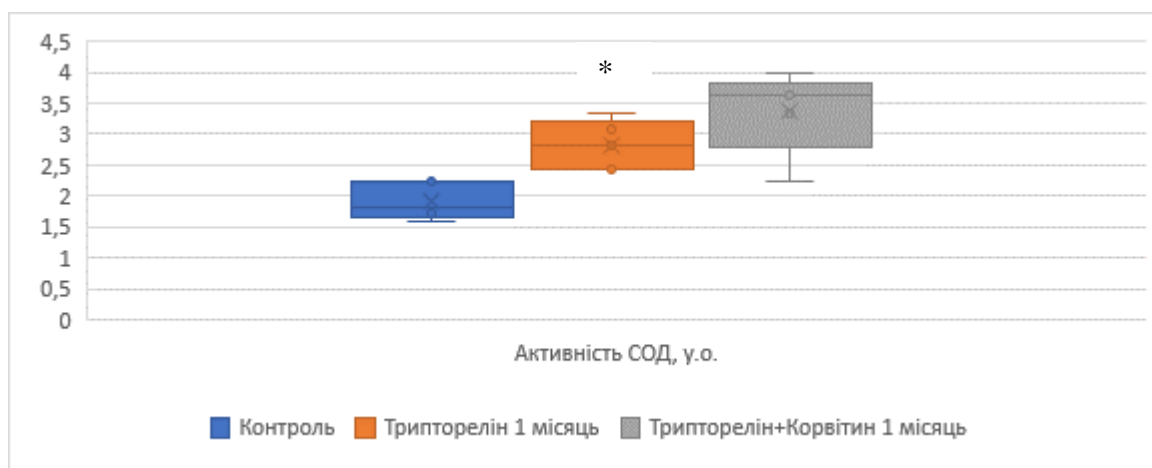


Рис 4.6. Активність СОД у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця не призводить до статистично значущих змін в активності

СОД порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців не призводить до статистично значущих змін в активності СОД в серці щурів порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.7).

Однчасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців призводить до збільшення активності СОД в серці щурів на 105,1% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців.

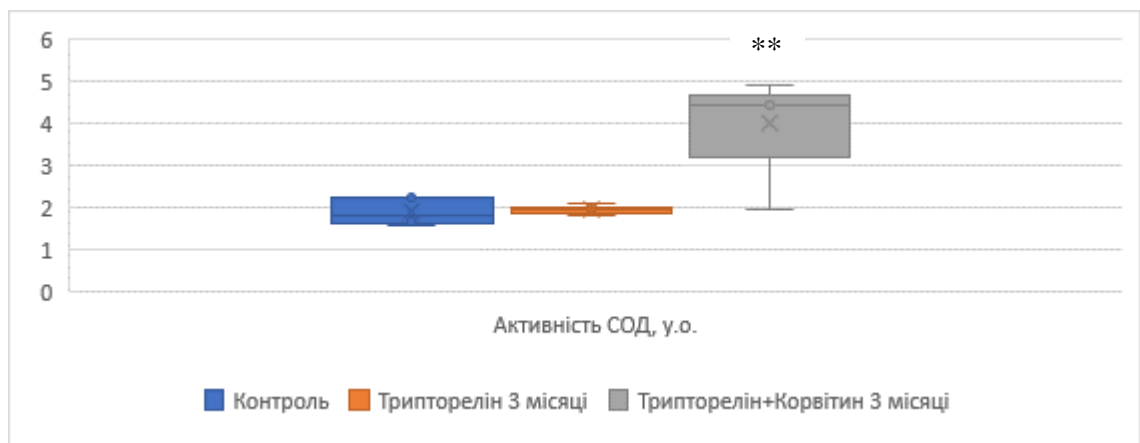


Рис 4.7. Активність СОД у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців призводить до падіння активності СОД в серці щурів на 31,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.8).

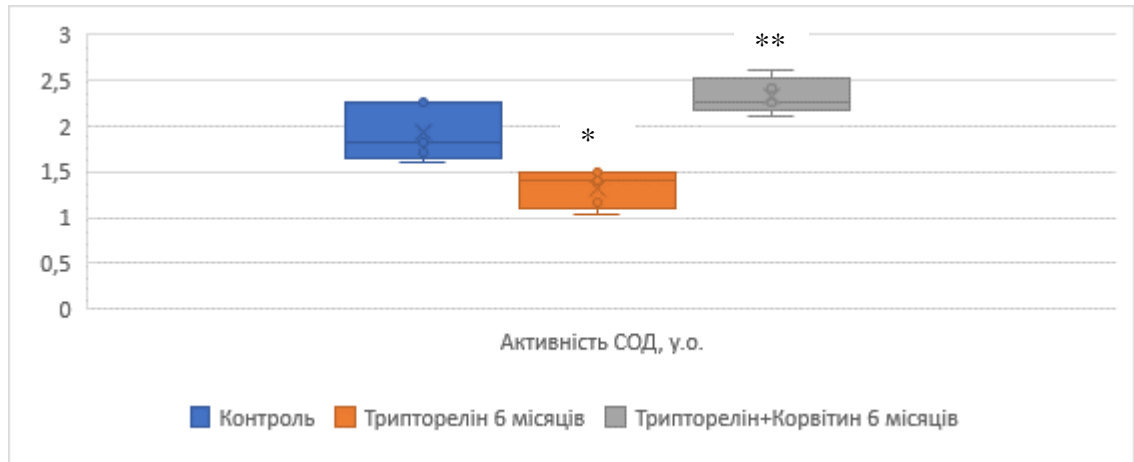


Рис 4.8. Активність СОД у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців збільшує активність СОД в серці щурів на 76,5% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців статистично значуще не впливає на активність СОД в серці щурів порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.9).

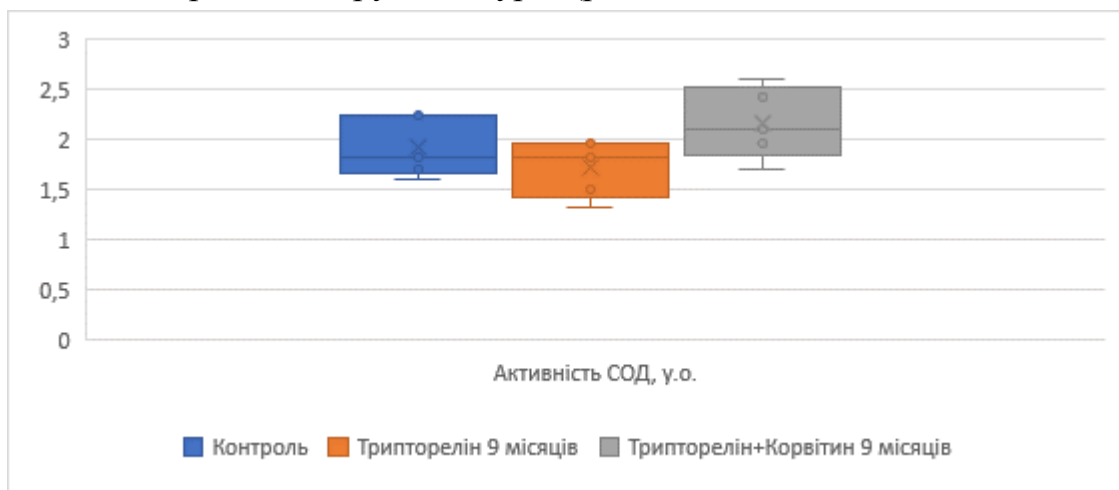


Рис 4.9. Активність СОД у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем

($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців не впливає на активність СОД в серці щурів порівняно з групою триптореліну щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців статистично значуще не впливає на активність СОД в серці щурів порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.10).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців не впливає на активність СОД в серці щурів порівняно з групою триптореліну щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців.

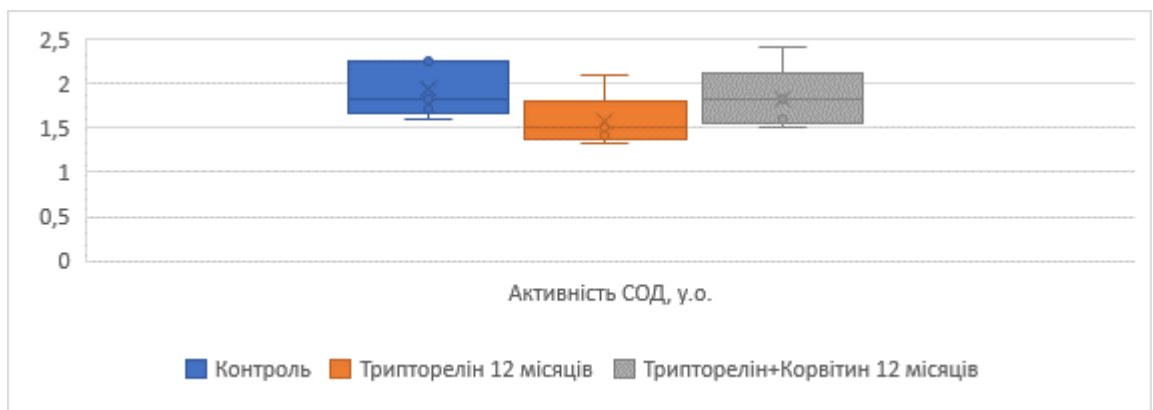


Рис 4.10. Активність СОД у серці щурів через 12 місяців експерименту.

* - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця збільшує активність каталази в серці щурів на 14,0% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.11).

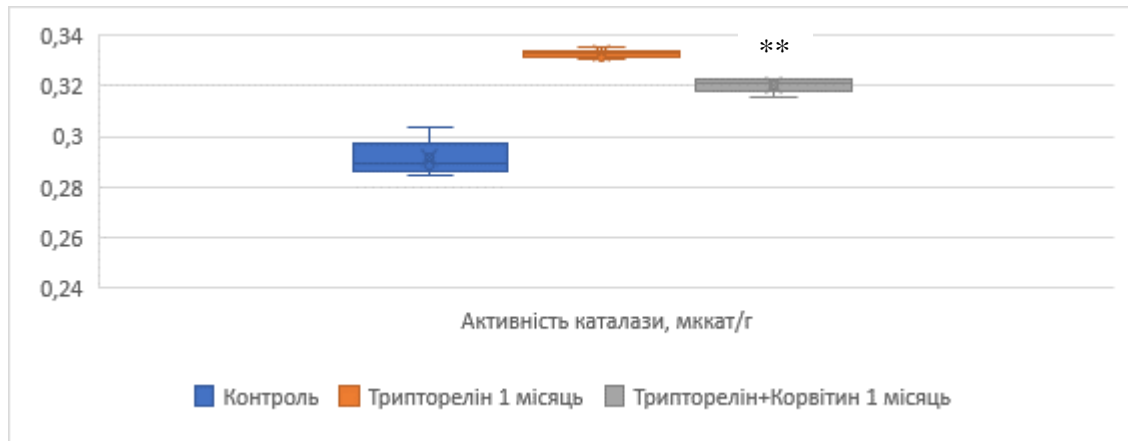


Рис 4.11. Активність каталази у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця знижує активність каталази в серці щурів на 3,9% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців знижує активність каталази в серці щурів на 5,8% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.12).

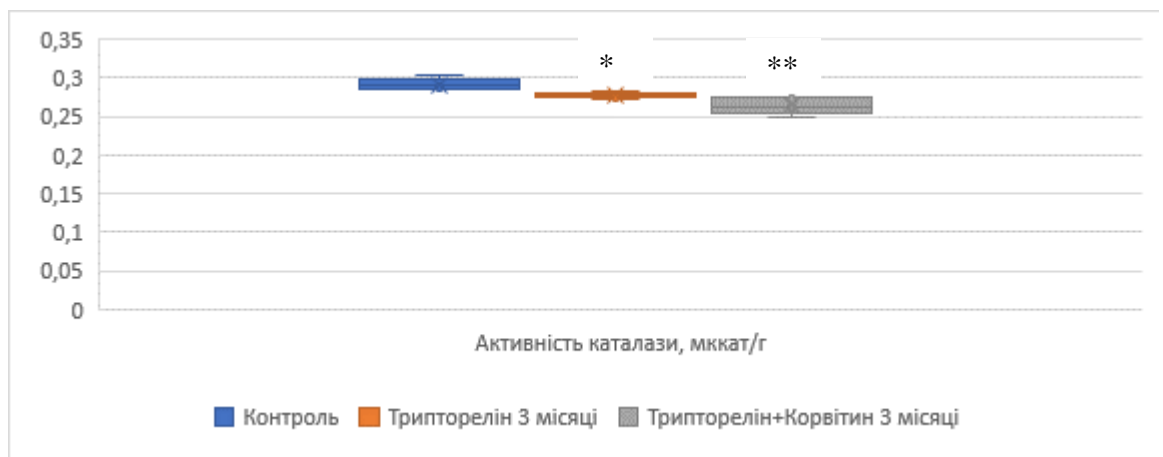


Рис 4.12. Активність каталази у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців знижує активність каталази в серці щурів на 4,7% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців знижує активність каталази в серці щурів на 28,1% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.13).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців підвищує активність каталази в серці щурів на 41,0% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців.

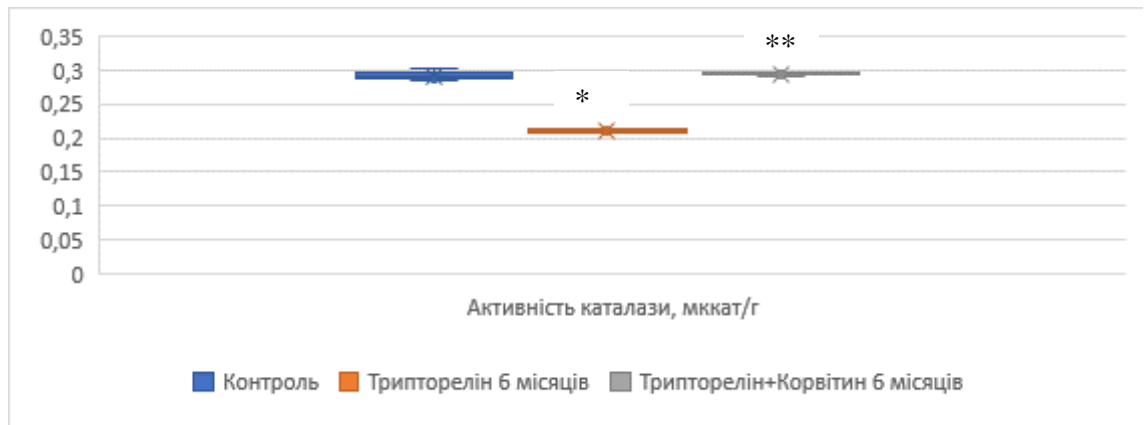


Рис 4.13. Активність каталази у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців знижує активність каталази в серці щурів на 17,5% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.14).

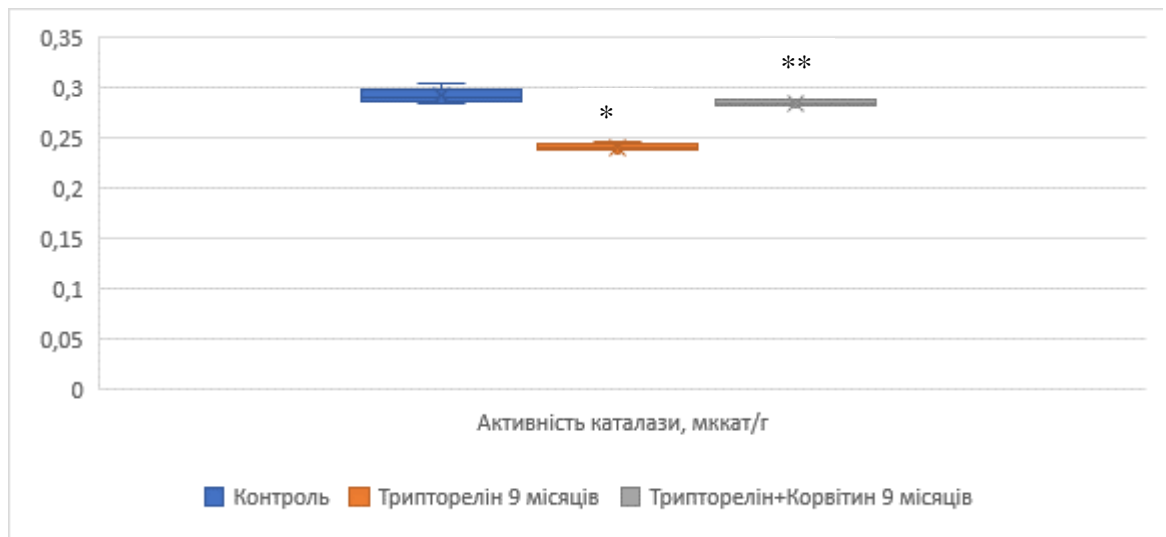


Рис 4.14. Активність каталази у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців підвищує активність каталази в серці щурів на 18,3% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців знижує активність каталази в серці щурів на 10,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.15).

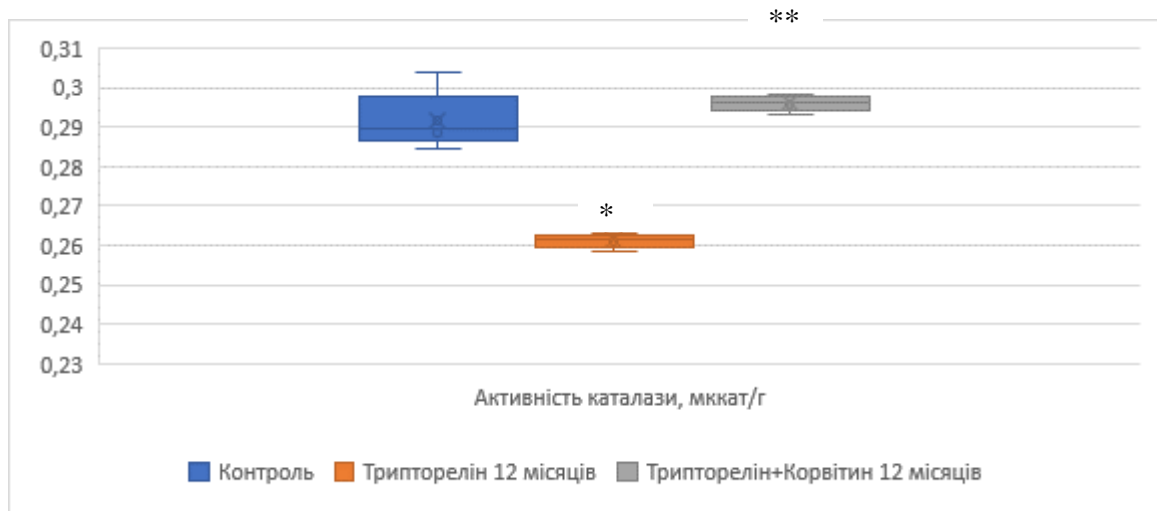


Рис 4.15. Активність каталази у серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та

контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців підвищує активність каталази в серці щурів на 13,4% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців.

4.3. Вплив водорозчинної форми кверцетину на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця зменшує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 14,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.16).

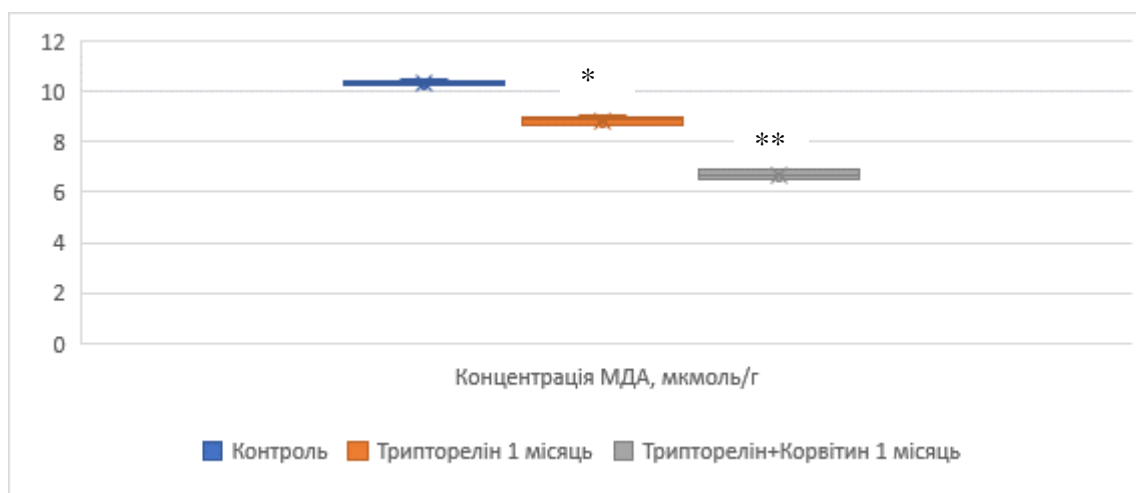


Рис 4.16. Концентрація малонового діальдегіду у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця знижує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 24,2% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців збільшує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 23,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.17).

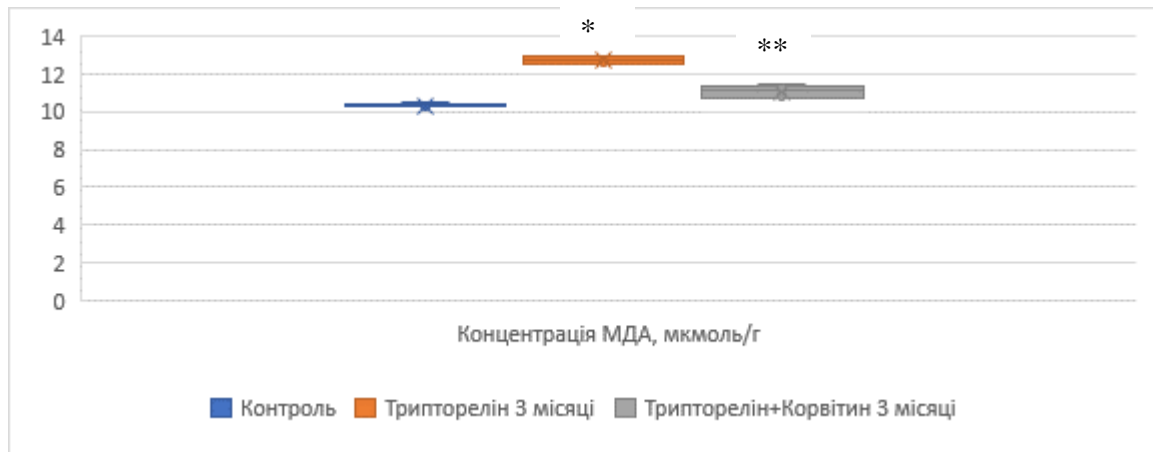


Рис 4.17. Концентрація малонового діальдегіду у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців знижує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 13,0% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців збільшує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 63,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.18).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців знижує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 36,7% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців.

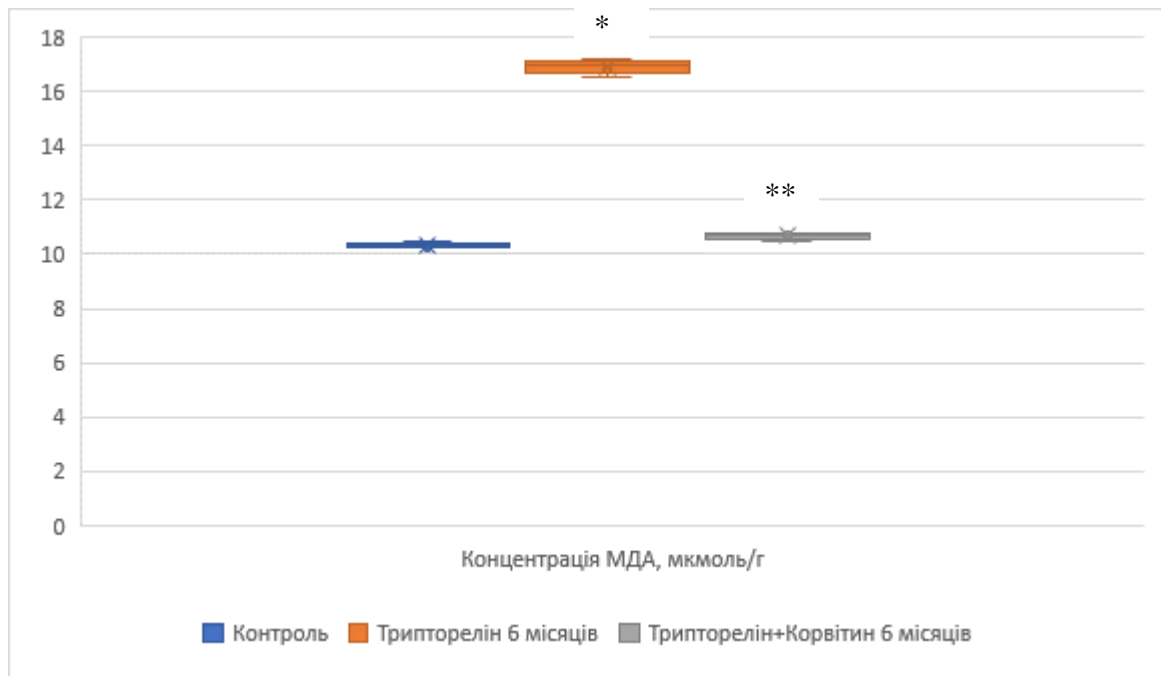


Рис 4.18. Концентрація малонового діальдегіду у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців збільшує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 39,4% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.19).

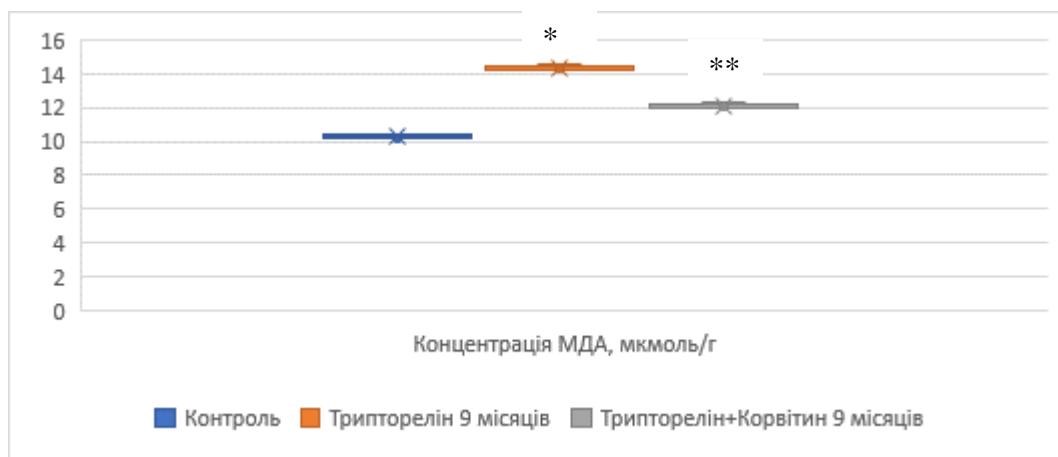


Рис 4.19. Концентрація малонового діальдегіду у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців знижує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 15,8% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців збільшує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 30,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.20).

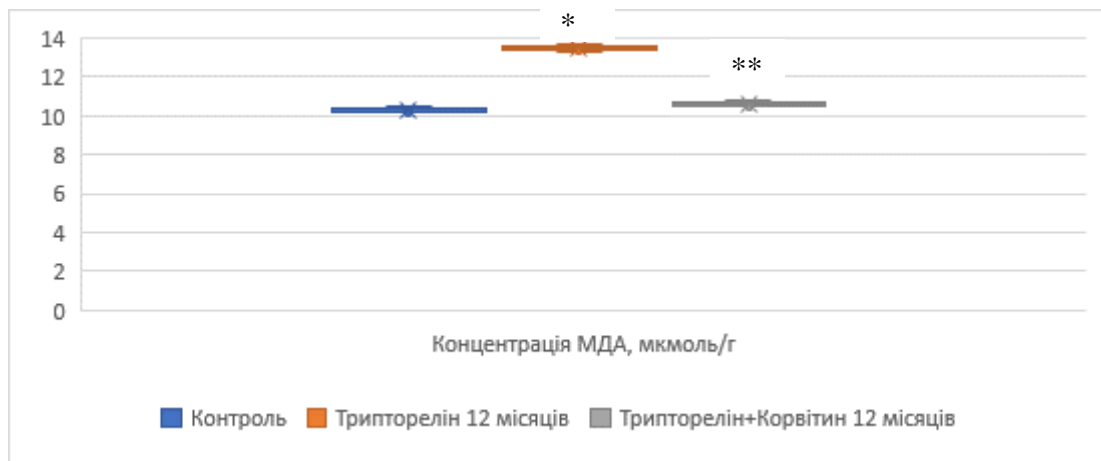


Рис 4.20. Концентрація малонового діальдегіду у серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців знижує вміст малонового діальдегіду в серці щурів на 21,4% порівняно з групою щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців.

4.4. Вплив водорозчинної форми кверцетину на активність ферментів циклу оксиду азоту в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця призводить до падіння загальної активності NO-синтаз в серці щурів

на 55,7% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.21). За цих умов активність аргіназ в серці щурів зростає на 7,1% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

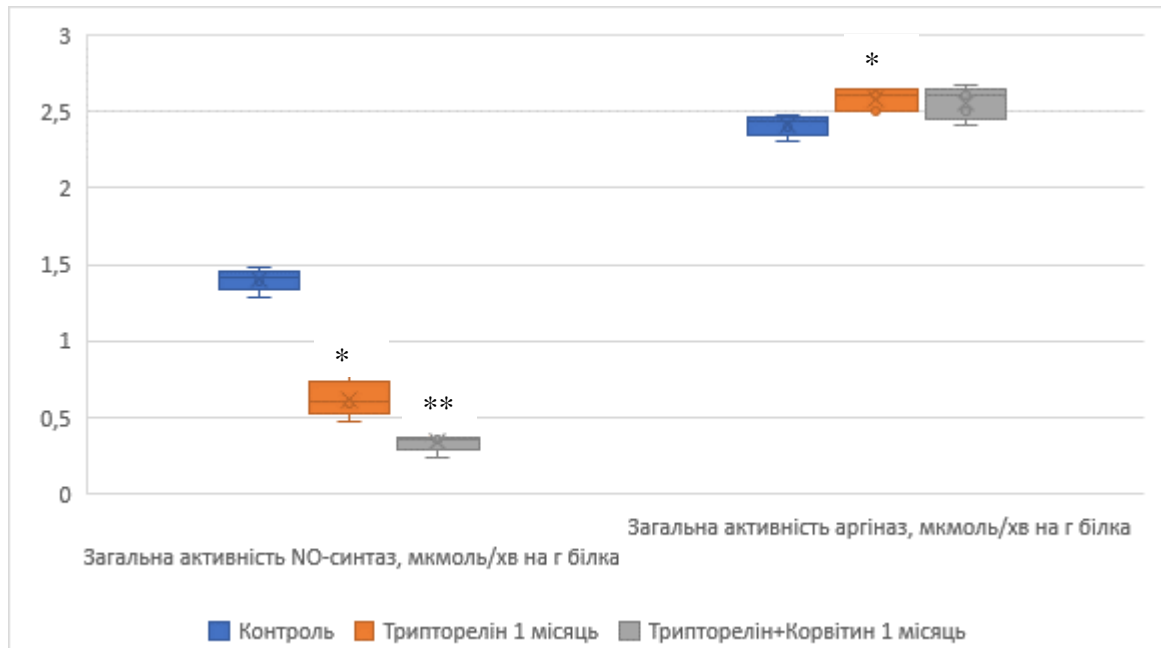


Рис 4.21. Загальна активність NO-синтаз та аргіназ у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Однотимчасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця знижує загальну NO-синтазну активність в серці щурів на 46,8% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця. Активність аргіназ за умов поєднаного впливу корвітину та триптореліну протягом 1 місяця статистично значуще не змінюється порівняно із показниками групи триптореліну.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців призводить до падіння загальної активності NO-синтаз в серці щурів на 37,9% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.22). За цих умов активність аргіназ в серці щурів падає на 22,4% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

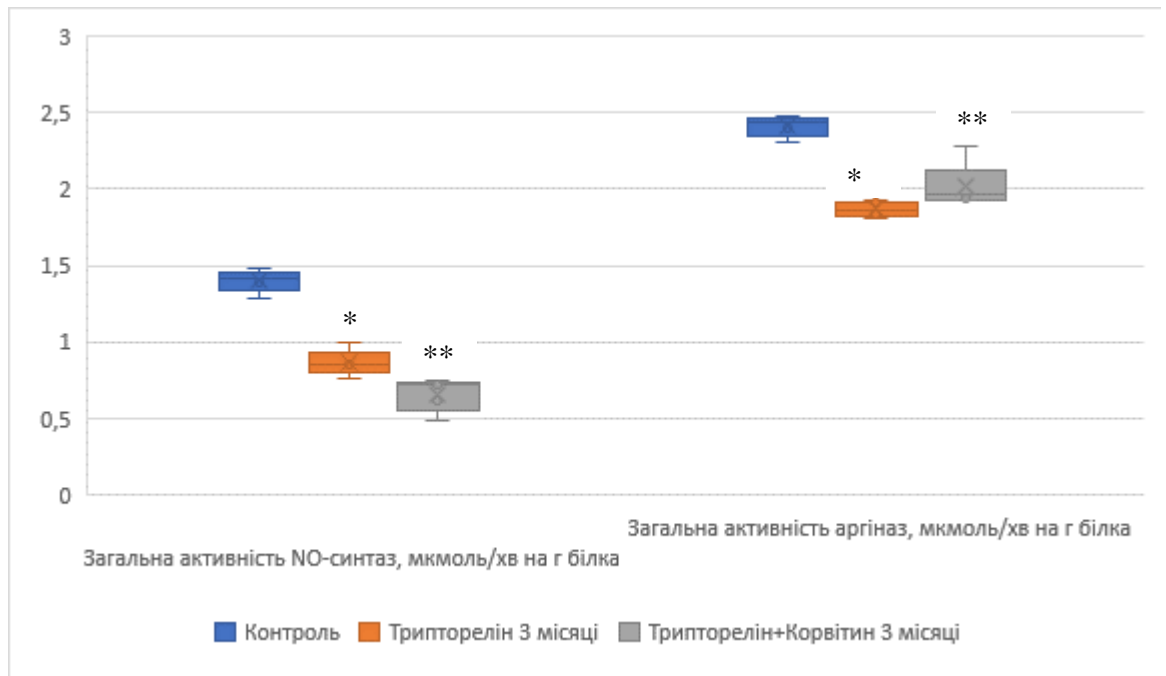


Рис 4.22. Загальна активність NO-синтаз та аргіназ у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців знижує загальну NO-синтазну активність в серці щурів на 24,1% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців. Активність аргіназ за умов поєданого впливу корвітину та триптореліну протягом 3 місяців зростає на 7,5% порівняно із показниками групи триптореліну.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців призводить до зростання загальної активності NO-синтаз в серці щурів на 68,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.23). За цих умов активність аргіназ в серці щурів падає на 37,3% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

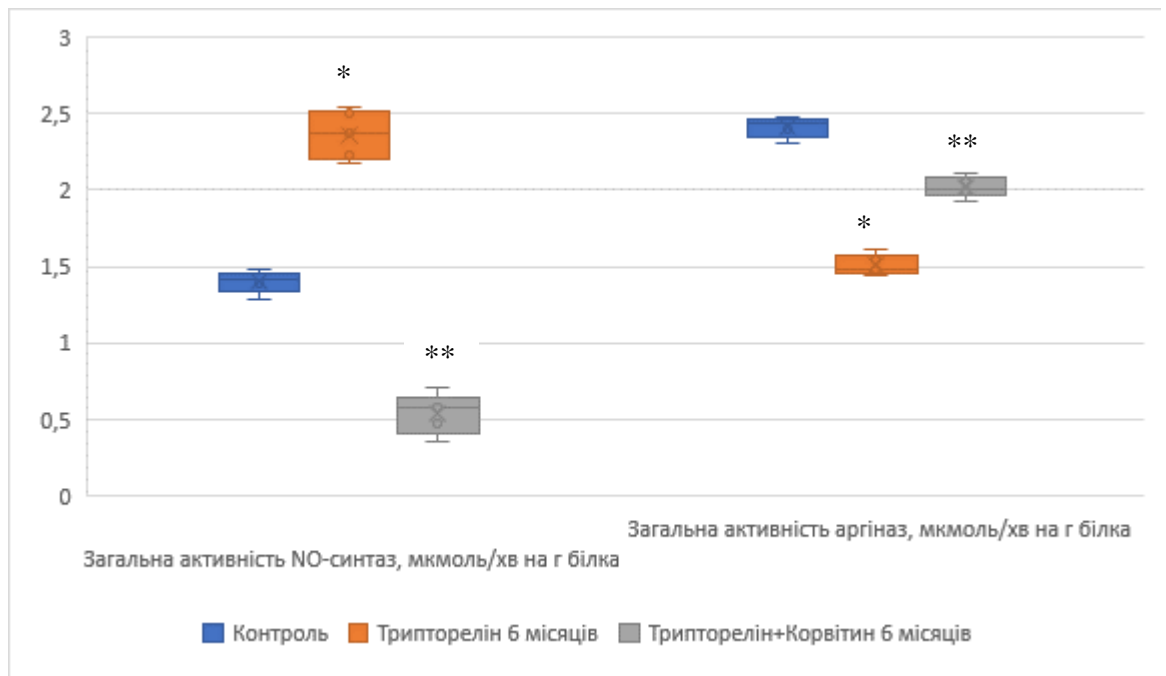


Рис 4.23. Загальна активність NO-синтаз та аргіназ у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців знижує загальну NO-синтазну активність в серці щурів на 77,1% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців. Активність аргіназ за умов поєднаного впливу корвітину та триптореліну протягом 6 місяців зростає на 33,7% порівняно із показниками групи триптореліну.

Отже на 6 місяць експерименту спостерігається перехід від дефіциту синтезу оксиду азоту у серці щурів, який створював загрозу гіпоксичного ушкодження тканин міокарду, до гіперпродукції оксиду азоту, який загрожує утворенням активних форм кисню та розвитком нітрозативного стресу.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців призводить до зростання загальної активності NO-синтаз в серці щурів на 25,0% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.24). За цих

умов активність аргіназ в серці щурів падає на 21,2% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

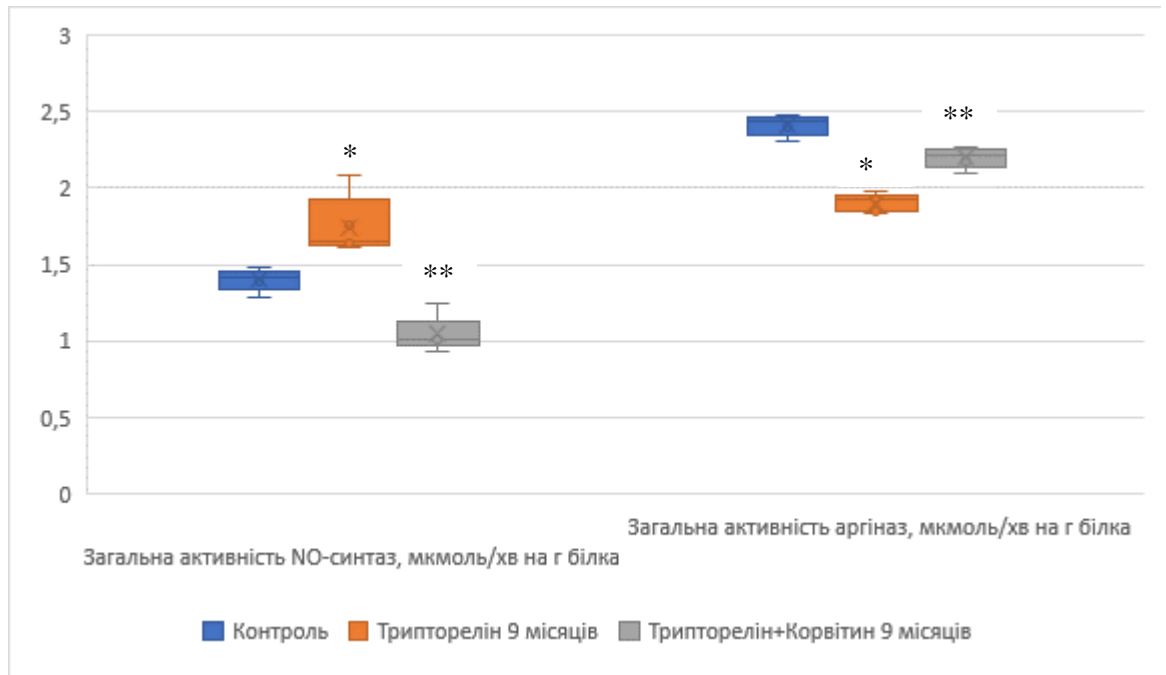


Рис 4.24. Загальна активність NO-синтаз та аргіназ у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців знижує загальну NO-синтазну активність в серці щурів на 40,6% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців. Активність аргіназ за умов поєднаного впливу корвітину та триптореліну протягом 9 місяців зростає на 15,8% порівняно із показниками групи триптореліну.

На 9 місяць трипторелінової блокади синтезу лютеїнізуючого гормону у функціонуванні циклу оксиду азоту продовжується тенденція, що була відмічена на 6 місяць експерименту. Корвітин ефективно відновлює функціональний стан аргіназ та NO-синтаз за умов його поєднаного застосування із триптореліном протягом 9 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців призводить до зростання загальної активності NO-синтаз в серці щурів на 20,7% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.25). За цих умов активність аргіназ в серці щурів падає на 15,8% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

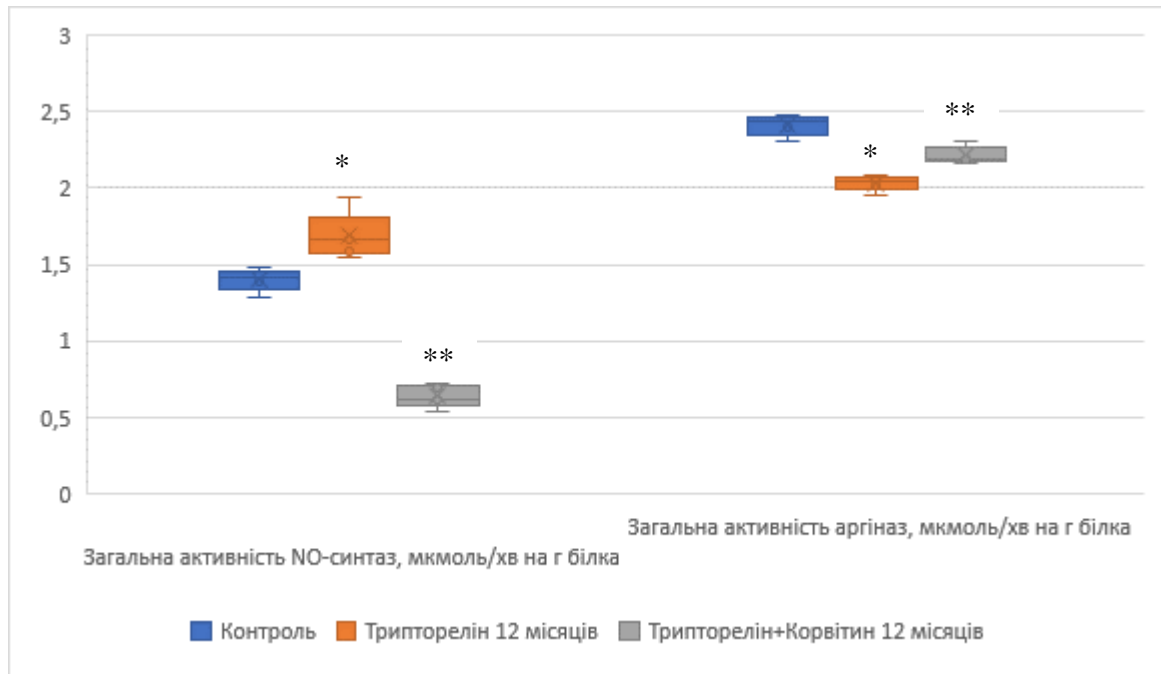


Рис 4.25. Загальна активність NO-синтаз та аргіназ у серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців знижує загальну NO-синтазну активність в серці щурів на 62,1% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців. Активність аргіназ за умов поєднаного впливу корвітину та триптореліну протягом 12 місяців зростає на 9,9% порівняно із показниками групи триптореліну.

На 12 місяць трипторелінової блокади синтезу лютеїнізуючого гормону у функціонуванні циклу оксиду азоту продовжується тенденція, що була відмічена на 6 та 9 місяці експерименту. Корвітин ефективно відновлює

функціональний стан аргіназ та NO-синтаз за умов його поєданого застосування із триптореліном протягом 12 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця призводить до зниження активності індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 58,2% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.26). За цих умов активність конститутивних ізоформ NO-синтази в серці щурів статистично значуще не змінюється порівняно із показниками контрольної групи тварин.

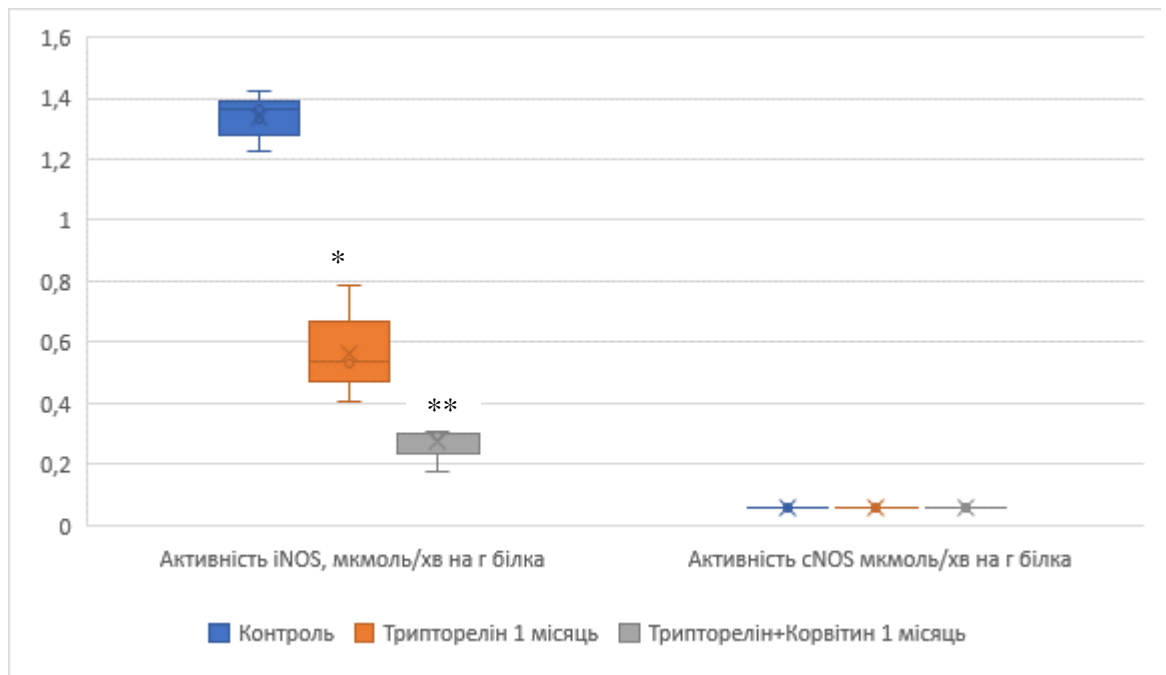


Рис 4.26. Активність iNOS та cNOS у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця знижує активність індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 50,0% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази за умов поєданого впливу

корвітину та триптореліну протягом 1 місяця статистично значуще не змінюється.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців призводить до зниження активності індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 40,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.27). За цих умов активність конститутивних ізоформ NO-синтази в серці щурів статистично значуще зростає на 6,9% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

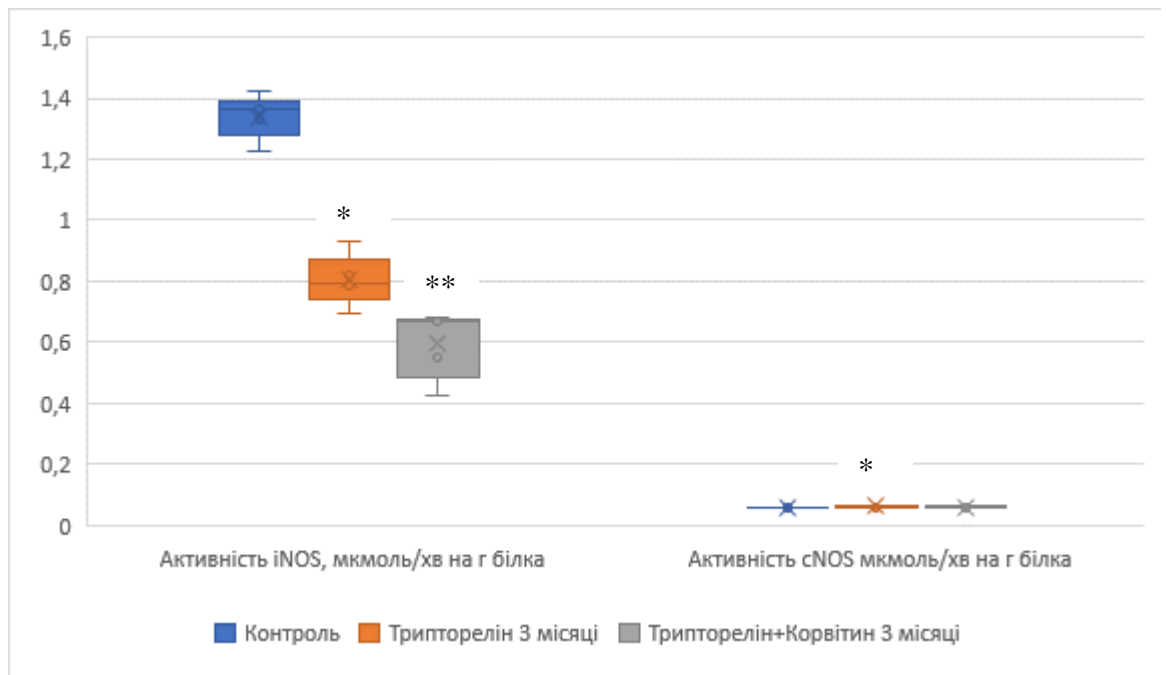


Рис 4.27. Активність iNOS та cNOS у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців знижує активність індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 25,0% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази за умов поєднаного

впливу корвітину та триптореліну протягом 3 місяців статистично значуще не змінюється.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців призводить до збільшення активності індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 72,4% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.28). За цих умов активність конститутивних ізоформ NO-синтази в серці щурів статистично значуще не змінюється порівняно із показниками контрольної групи тварин.

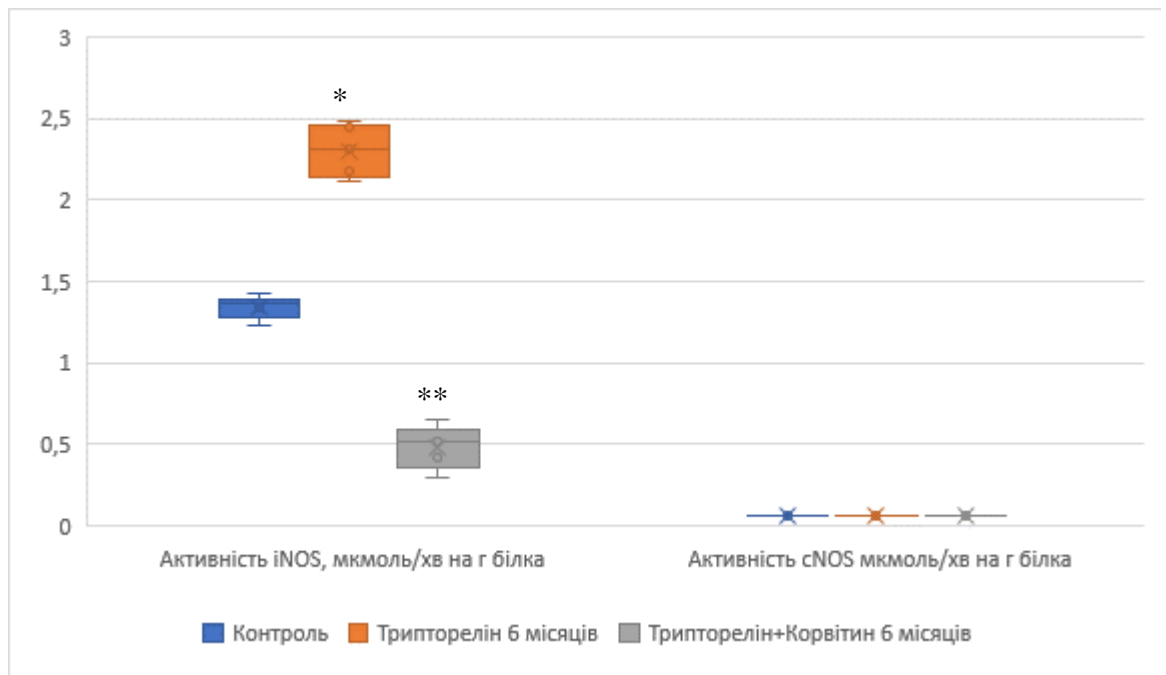


Рис 4.28. Активність iNOS та cNOS у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців знижує активність індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 79,2% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази за умов поєданого

впливу корвітину та триптореліну протягом 6 місяців статистично значуще не змінюється.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців призводить до збільшення активності індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 26,1% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.29). За цих умов активність конститутивних ізоформ NO-синтази в серці щурів статистично значуще не змінюється порівняно із показниками контрольної групи тварин.

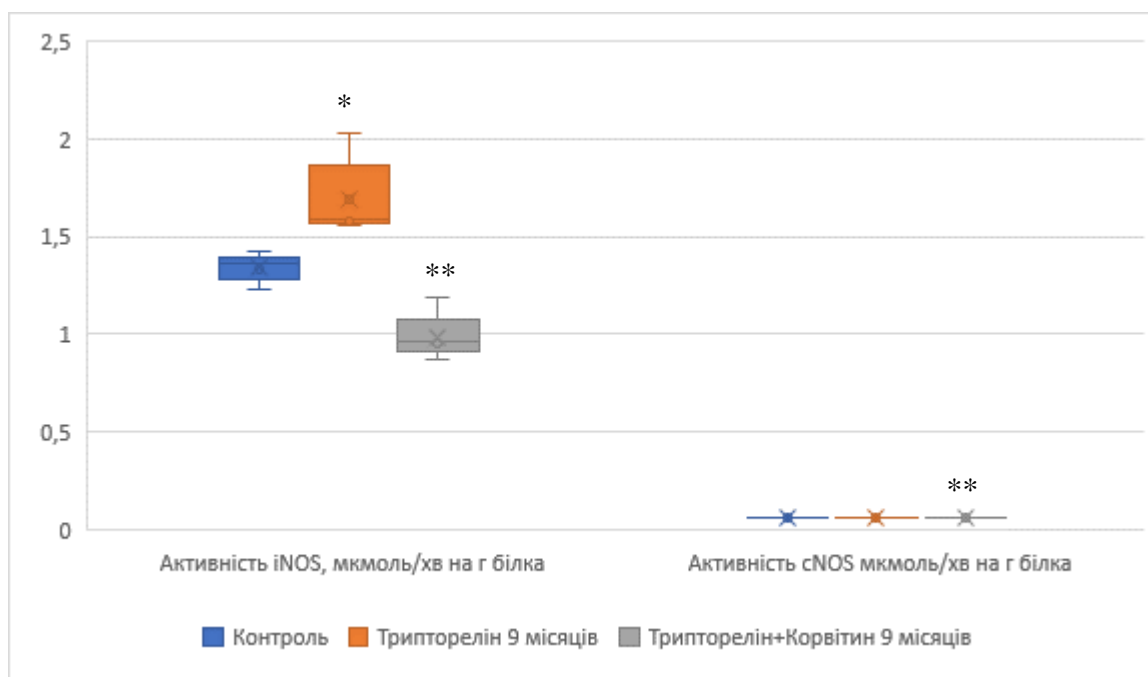


Рис 4.29. Активність iNOS та cNOS у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців знижує активність індукцибельної NO-синтази в серці щурів на 41,4% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази за умов поєданого впливу корвітину та триптореліну протягом 9 місяців знижується на 2,7%.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців призводить до збільшення активності індукцйбельної NO-синтази в серці щурів на 21,6% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.30). За цих умов активність конститутивних ізоформ NO-синтази в серці щурів статистично значуще зростає на 3,4% порівняно із показниками контрольної групи тварин.

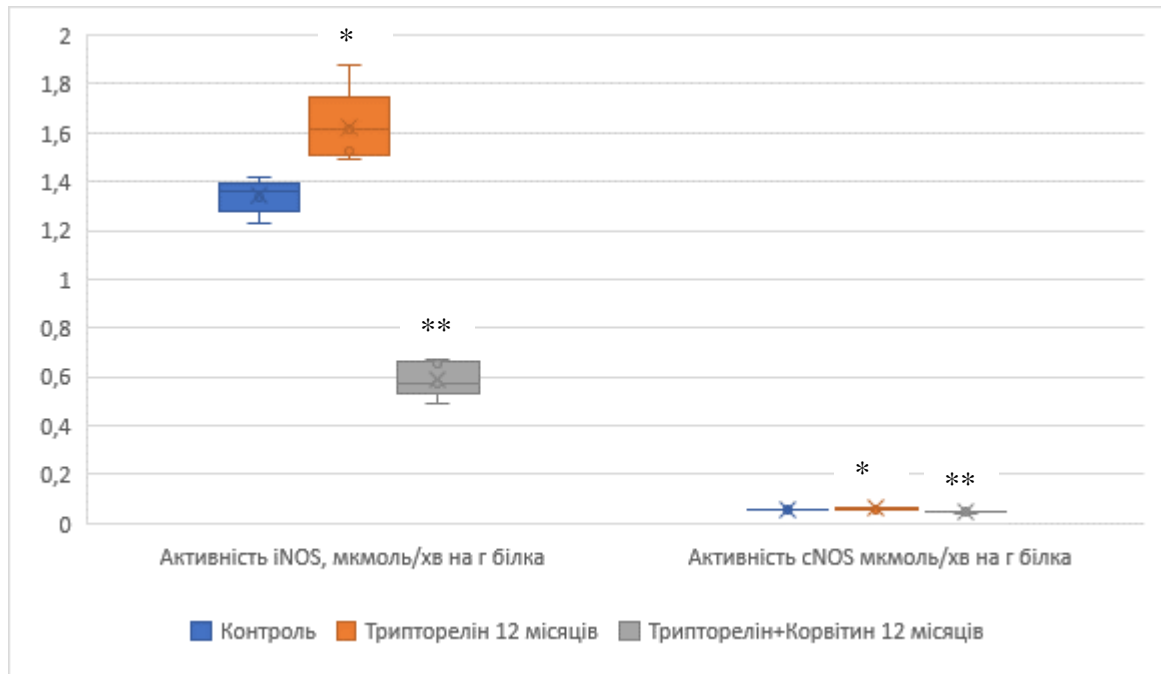


Рис 4.30. Активність iNOS та cNOS у серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців знижує активність індукцйбельної NO-синтази в серці щурів на 63,8% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців. Активність конститутивних ізоформ NO-синтази за умов поєданого впливу корвітину та триптореліну протягом 12 місяців статистично значуще зменшується на 26,7% порівняно із показниками щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 1 місяця призводить до зниження концентрації нітритів в серці щурів на 36,4% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.31).

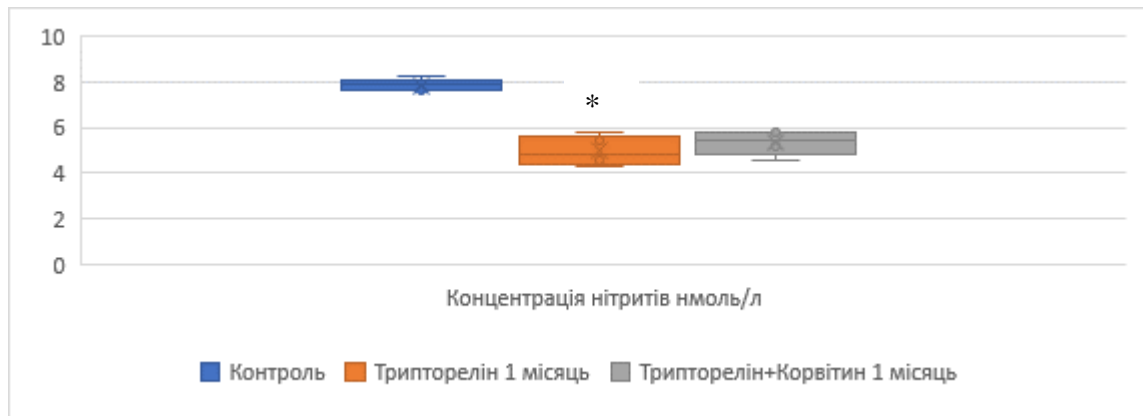


Рис 4.31. Концентрація нітритів у серці щурів через 1 місяць експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 1 місяця статистично значуще не змінює концентрацію нітритів порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 1 місяця.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 3 місяців призводить до зростання концентрації нітритів в серці щурів на 20,9% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.32).

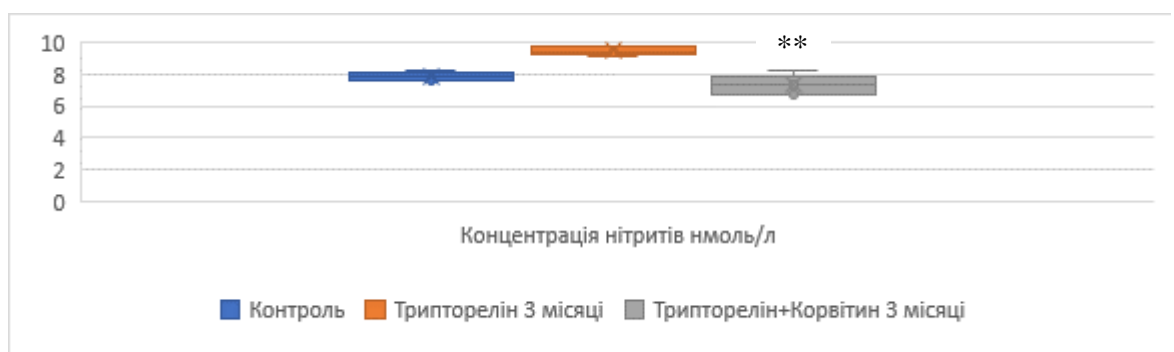


Рис 4.32. Концентрація нітритів у серці щурів через 3 місяці експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та

контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 3 місяців знижує концентрацію нітритів на 23,0% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 3 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 6 місяців призводить до зростання концентрації нітритів в серці щурів на 13,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.33).

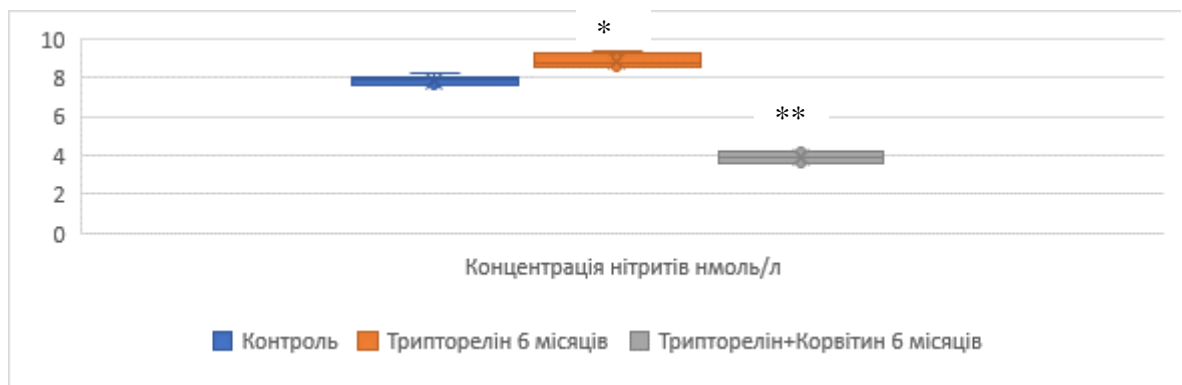


Рис 4.33. Концентрація нітритів у серці щурів через 6 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 6 місяців знижує концентрацію нітритів на 55,5% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 6 місяців.

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 9 місяців статистично значуще не впливає на концентрацію нітритів в серці щурів порівняно із показниками контрольної групи щурів (рис 4.34).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 9 місяців статистично значуще знижує концентрацію нітритів на 24,2% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише

трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 9 місяців.

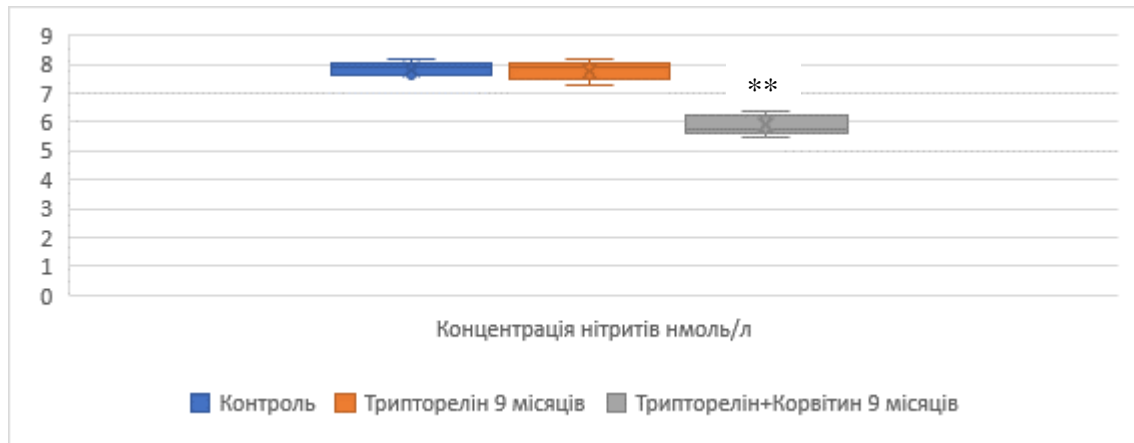


Рис 4.34. Концентрація нітритів у серці щурів через 9 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом 12 місяців призводить до зростання концентрації нітритів в серці щурів на 9,3% порівняно із контрольною групою щурів (рис 4.35).

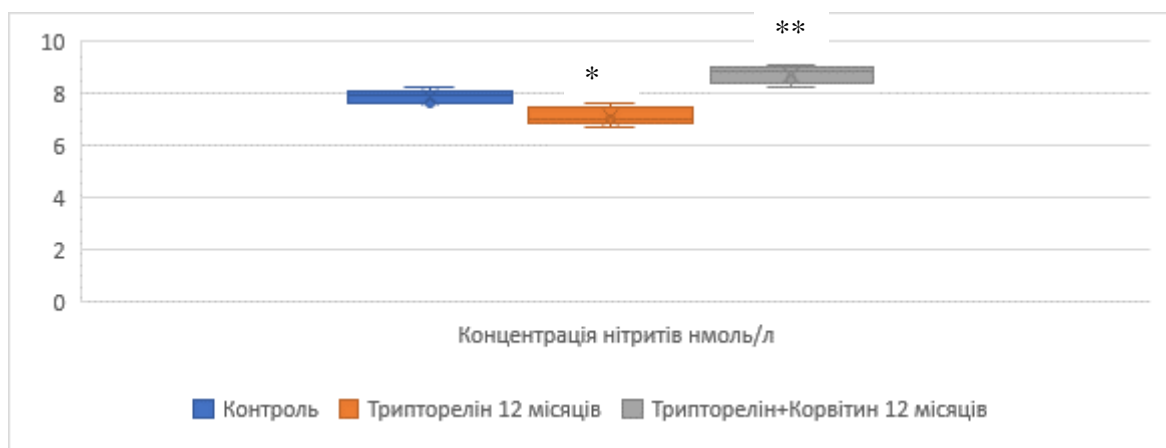


Рис 4. 35. Концентрація нітритів у серці щурів через 12 місяців експерименту. * - різниця статистично значуща між групою триптореліну та контролем ($p < 0,05$); ** - різниця статистично значуща між групою триптореліну та групою трипторелін+корвітин ($p < 0,05$).

Одночасне введення водорозчинної форми кверцетину та триптореліну протягом 12 місяців статистично значуще збільшує концентрацію нітритів на 22,2% порівняно із показниками групи щурів, яким вводили лише трипторелін для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону протягом 12 місяців.

4.5. Резюме:

1. 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.

2. 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.

3. Перші терміни блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (1 місяць 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 індукцйбельної ізоформи NO-синтази.

4. 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.

Матеріали даного розділу опубліковані у статті:

Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Akimov OYe, Puzyryov GS. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats

heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. *World of Medicine and Biology*. 2022; 79(1): 179-183. Doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183.

Тези доповіді:

Ворошилова Т. А. Характеристика тканинних макрофагів інтерстиційного простору серця при стрес індукованому порушенні синтезу лютеїнізуючого гормону введенням триптореліну у щурів / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 16–18.

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ДОВГОТРИВАЛОГО БЛОКУВАННЯ РИЛІЗИНГ-ГОРМОНУ НА ЗМІНИ В ПОЛЯРИЗАЦІЇ МАКРОФАГІВ, АКТИВНОСТІ КАСПАЗИ-3 В ІМШ НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ КВЕРЦЕТИНУ У ЩУРІВ

5.1. Характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду ІМШ, за рецепторами CD68+ та CD163+ при введенні триптореліну

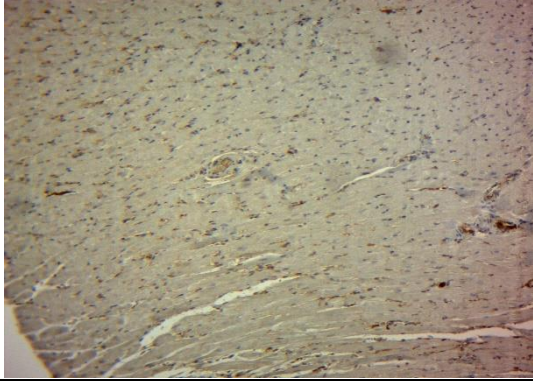
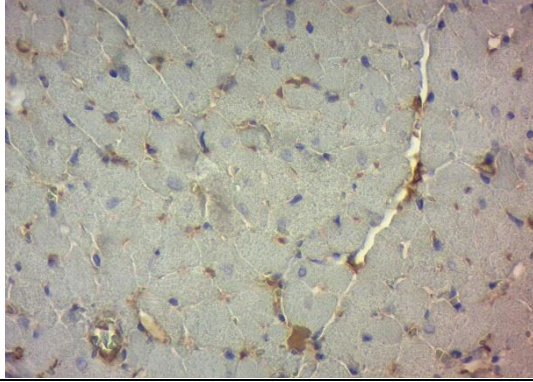
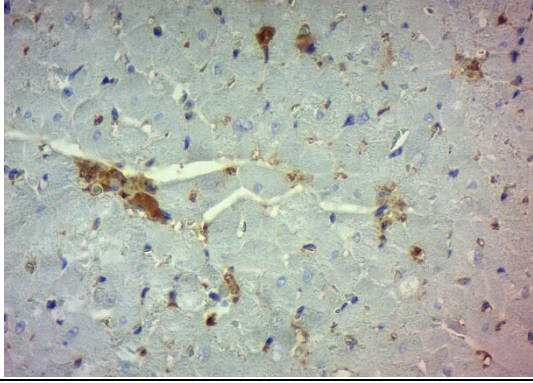
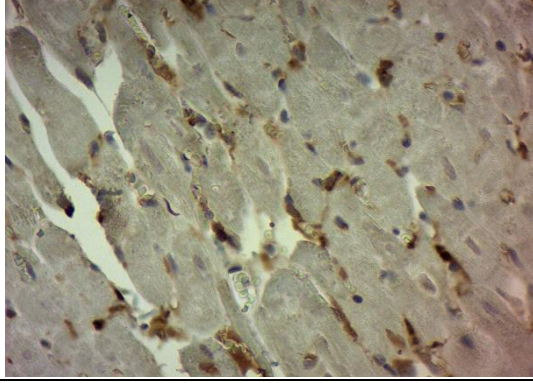
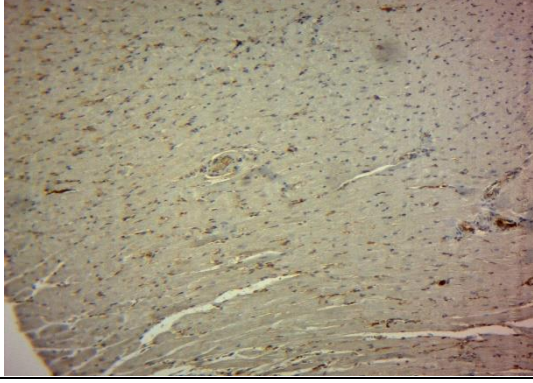
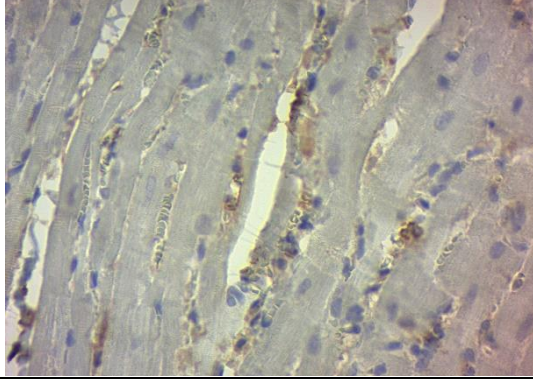
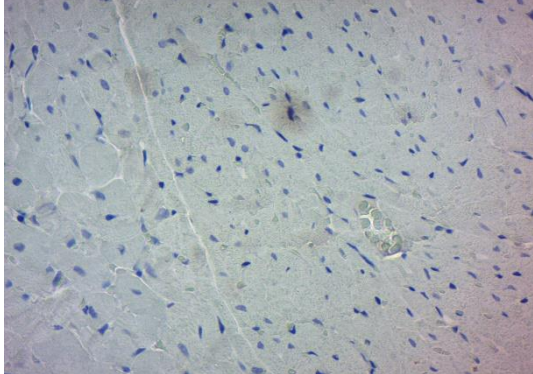
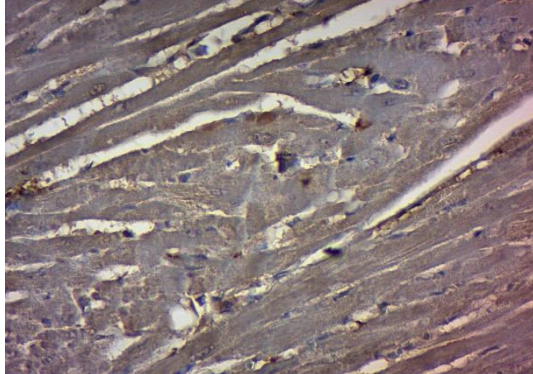
При вивченні нами напівтонких зрізів тканин серця обох експериментальних груп встановлено, що клітини моноцитарно-макрофагального ряду ІМШ по різному реагують на введення триптореліну та триптореліну з кверцетином. Цей факт підтверджується при проведенні гістохімічного дослідження із застосуванням маркерів CD68 та CD163. Нами був проведений підрахунок клітин, які зв'язувались з відповідними маркерами. Результати статистичного аналізу представлені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1.

Динаміка кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду ІМШ, за рецепторами CD68+ та CD163+ при введенні триптореліну

Терміни	CD 68	CD 163
контроль	43,67±5,026	32,39±1,745 *
1 м	83,83±9,528 #	50,67±4,053 # *
3 м	38,97±2,289	70,33±8,996 # *
6 м	63,67±8,269 #	62,50±5,043 #
9 м	25,98±1,687 #	65,83±3,850 # *
12 м	17,17±2,773 #	42,87±2,916 # *
Примітка: порівняння К та терміни # <0.05; порівняння CD 68 та CD 163 *<0.05.		

Аналіз підрахунку клітин моноцитарно-макрофагального ряду, за рецепторами CD68+ при введенні триптореліну показав процес, який характеризується різким максимальним збільшенням їх кількості на 1 місяць спостереження, достовірним при $p < 0.05$.

CD 68	CD 163
A	A
	
Б	Б
	
B	B
	
Г	Г
	

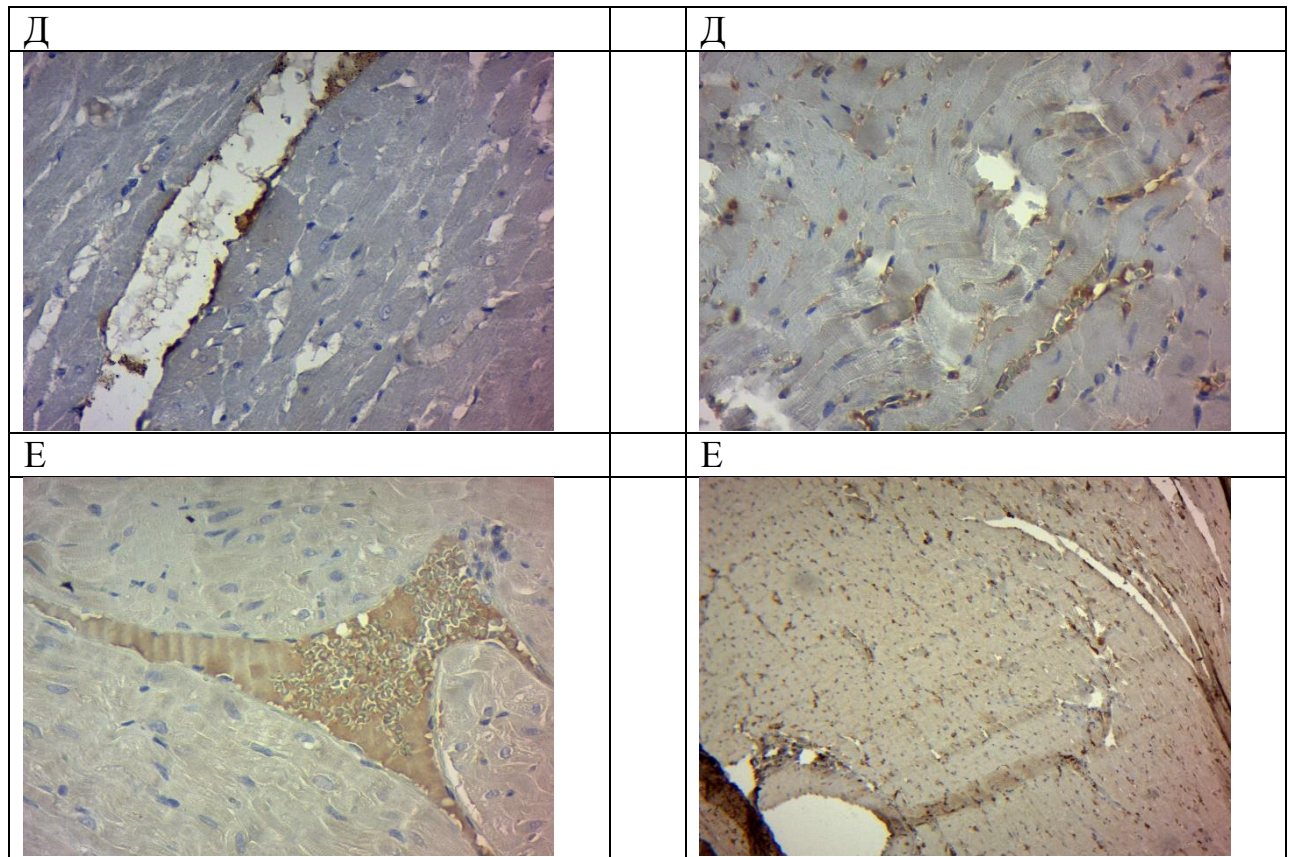


Рис. 5.1. Експресія CD68+ та CD163+ при введенні триптореліна (А – Контроль; Б – 1 місяць; В – 3 місяць; Г – 6 місяць; Д – 9 місяць; Е – 12 місяць дослідження), збільшення $\times 400$.

На 3 місяць, нами відмічалось, суттєве зниження цього показника не тільки при порівнянні з попереднім терміном дослідження, а і з групою контролю ($p < 0.05$). На середину терміну спостереження (6 місяців), виявлялось різке, достовірне збільшення кількості клітин CD68+. Це збільшення було суттєвим при порівнянні з групою контролю при $p < 0.05$. На 9 місяць спостереження відмічалось зменшення кількості клітин моноцитарно-макрофагального ряду при порівнянні з групою контролю при $p < 0.05$. І на останній термін спостереження (12 місяць) цей показник був суттєво меншим від попереднього терміну, а також в порівнянні з групою контролю ($p < 0.05$).

При введенні триптореліну клітини моноцитарно-макрофагального ряду з рецепторами CD163+ виявляли загальну тенденцію до збільшення їх кількості, але це збільшення при порівнянні з CD68+ було різним. Як видно

на табл 5.1. динаміка суттєвого збільшення виявлялась протягом 1 та 3 місяця спостереження ($p < 0.05$). На 6 місяць спостереження кількісний показник достовірно зменшувався, при порівнянні з попереднім терміном ($p < 0.05$). На 9 місяць кількість клітин, з рецептором CD163+ збільшилась, при порівнянні з попереднім терміном ($p < 0.05$). На 12 місяць спостереження виявлялось достовірне зменшення кількісного показника клітин при порівнянні з попереднім терміном, але порівняння з контрольним показником показало, що він ще був досить високим ($p < 0.05$).

5.2. Характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду ІМШ, за рецепторами CD68+ та CD163+ при введенні триптореліну і кверцетину

Аналіз статистичного показника кількості клітин CD68+ та CD163+ при введенні триптореліну і кверцетину показав, що зберігається загальна тенденція, притаманна попередній експериментальній групі. Результати статистичного аналізу представлені в табл 5.2.

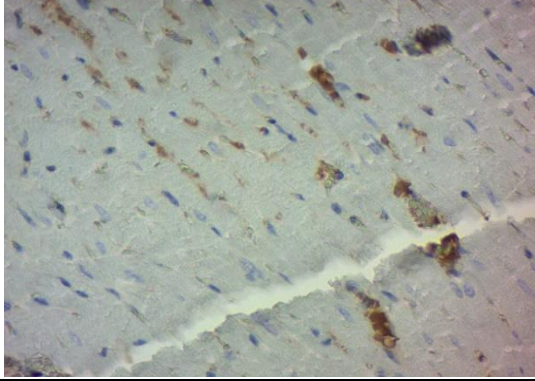
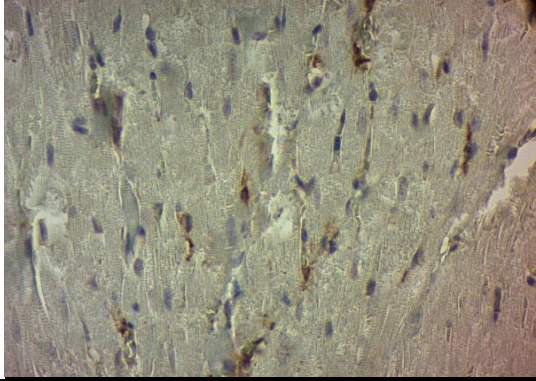
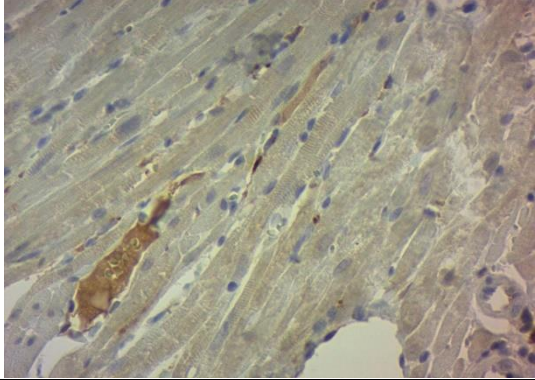
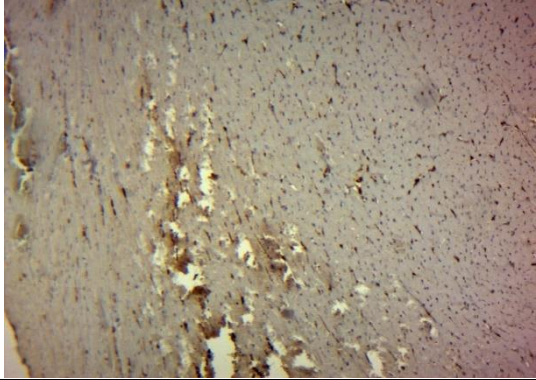
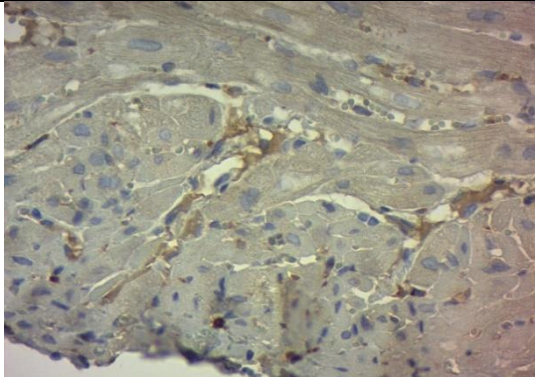
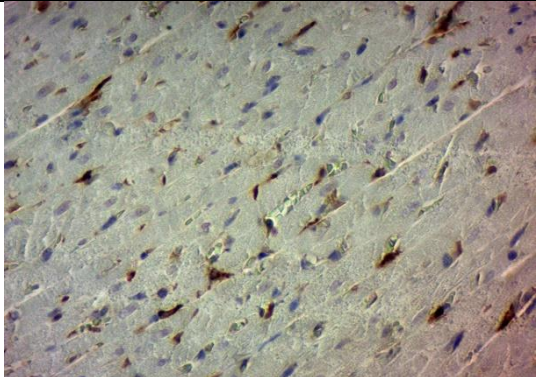
Таблиця 5.2.

Динаміка кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду ІМШ, за рецепторами CD68+ та CD163+ при введенні триптореліну і кверцетину

Терміни	CD 68	CD 163
контроль	43,67±5,026	32,39±1,745 *
1 м	65,83±3,850 #	38,67±4,214 *
3 м	70,33±8,995 #	47,07±2,668 #; *
6 м	49,42±4,788	54,50±4,479 #
9 м	47,92±4,383	43,33±3,487 #
12 м	49,42±4,788	49,92±4,329 #
Примітка: порівняння К та терміни # <0.05; порівняння CD 68 та CD 163 * <0.05.		

Як видно на табл 5.2, на 1-3 місяці спостереження відмічалось достовірне збільшення кількісного показника, а для CD163 збільшення

відмічалось і на термін 6 місяців ($p < 0.05$). Починаючи з середини експерименту, виявлялось зменшення цих показників. Достовірність різниці була не суттєва при $p > 0.05$.

CD 68	CD 163
<p data-bbox="212 483 815 528">А</p> 	<p data-bbox="815 483 1495 528">А</p> 
<p data-bbox="212 907 815 952">Б</p> 	<p data-bbox="815 907 1495 952">Б</p> 
<p data-bbox="212 1330 815 1375">В</p> 	<p data-bbox="815 1330 1495 1375">В</p> 

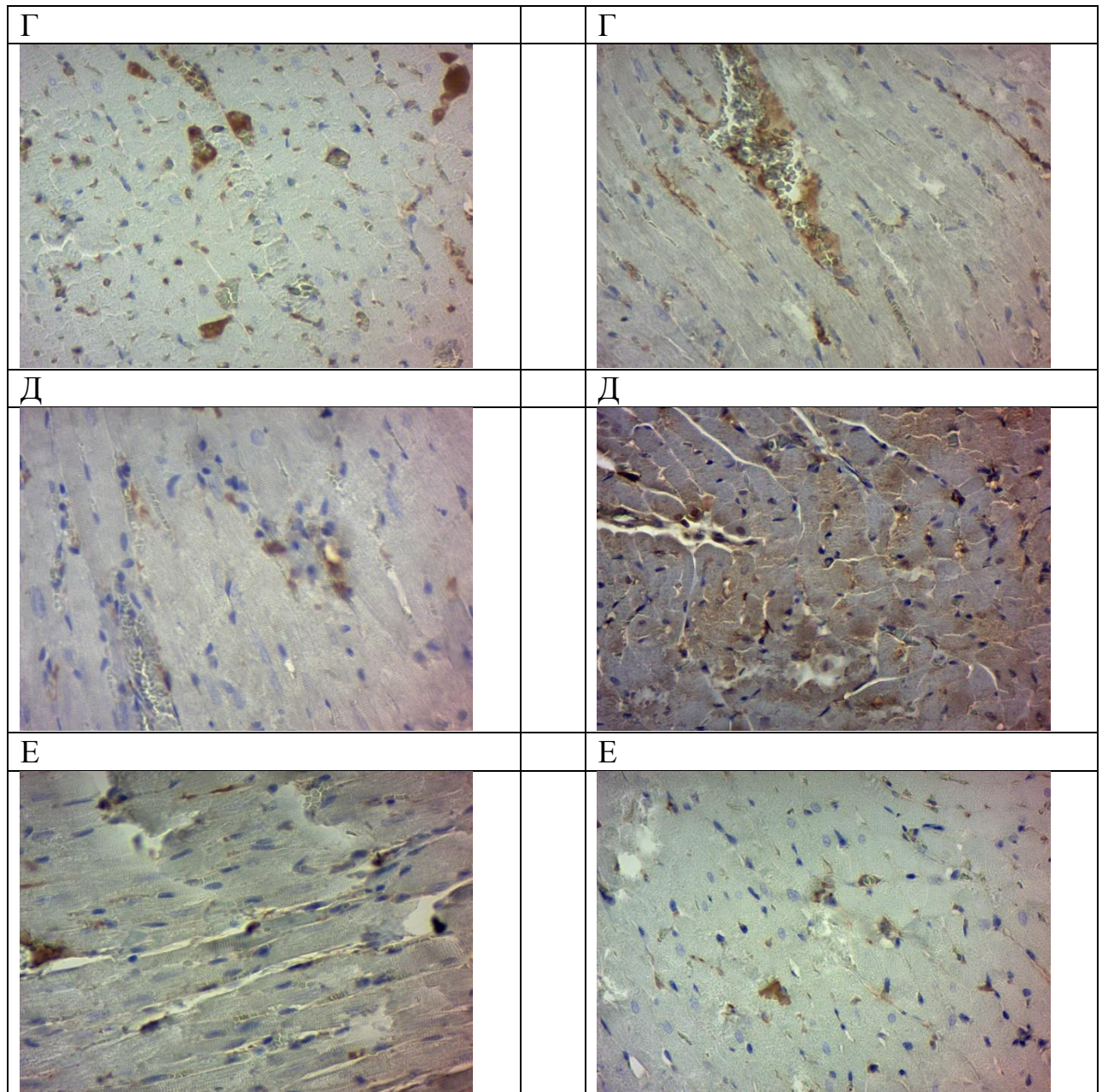
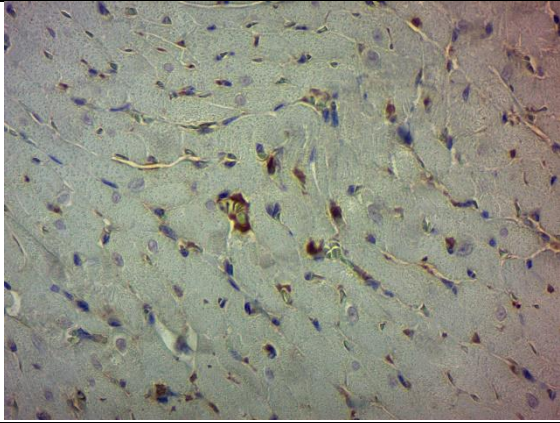
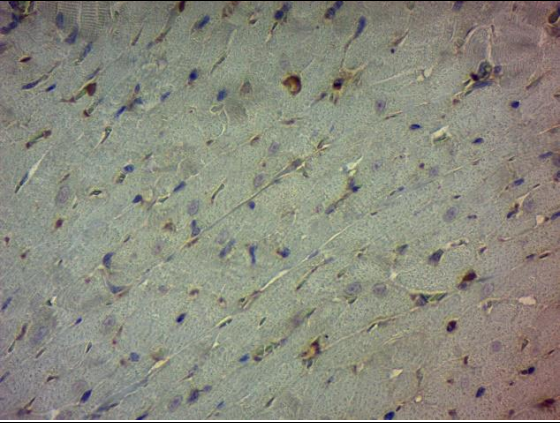
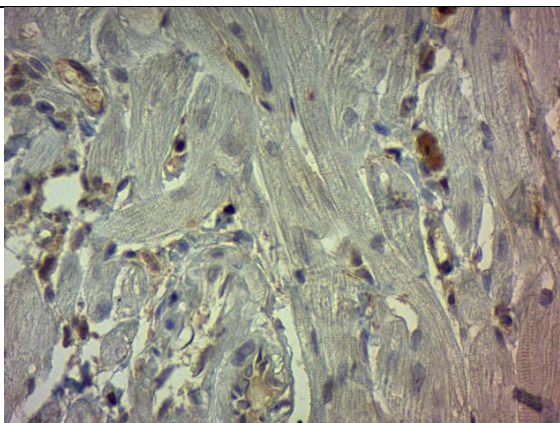
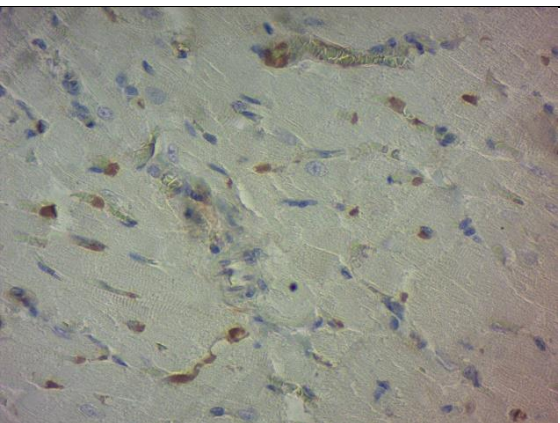
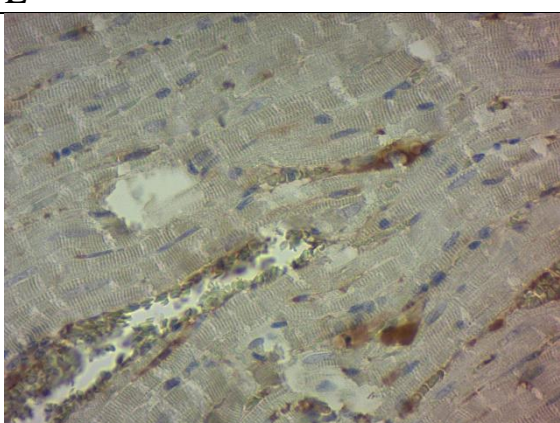
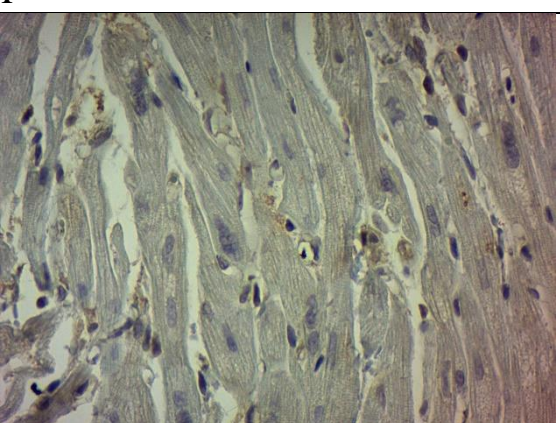


Рис.5.2. Експресія CD68+ та CD163+ при введенні триптореліна і кверцетина (А – Контроль; Б – 1 місяць; В – 3 місяць; Г – 6 місяць; Д – 9 місяць; Е – 12 місяць дослідження), збільшення x400.

5.3. Характеристика кількісного показника активності каспази-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні рилізінг-гормону у щурів самців та введенні кверцетину

При дослідженні нами напівтонких зрізів тканин серця обох експериментальних груп, експресія каспази-3 тією чи іншою мірою виявлена нами практично у всіх клітинних елементах (в ядрах кардіоміоцитів та клітин

інтерстиційного простору), що підтверджує їхній взаємозв'язок як у розвитку патологічного стану при блокуванні синтезу тестостерону, так і захисних реакцій і відновних процесах в них. Більший ступінь експресії виявлявся в клітинах інтерстиційного простору – ендотеліоцитах, макрофагах та фібробластах. Хроматин набував інтенсивного темно-коричневого забарвлення, при цьому зона розташування ядерця в цих клітинах залишалась незабарвленою (рис. 5.3).

Каспаза 3 - Трипторелін		Каспаза 3 – Трипторелін+Кверцетин
А		В
	30-та доба	
С		D
	90-та доба	
Е		F
	180-та доба	

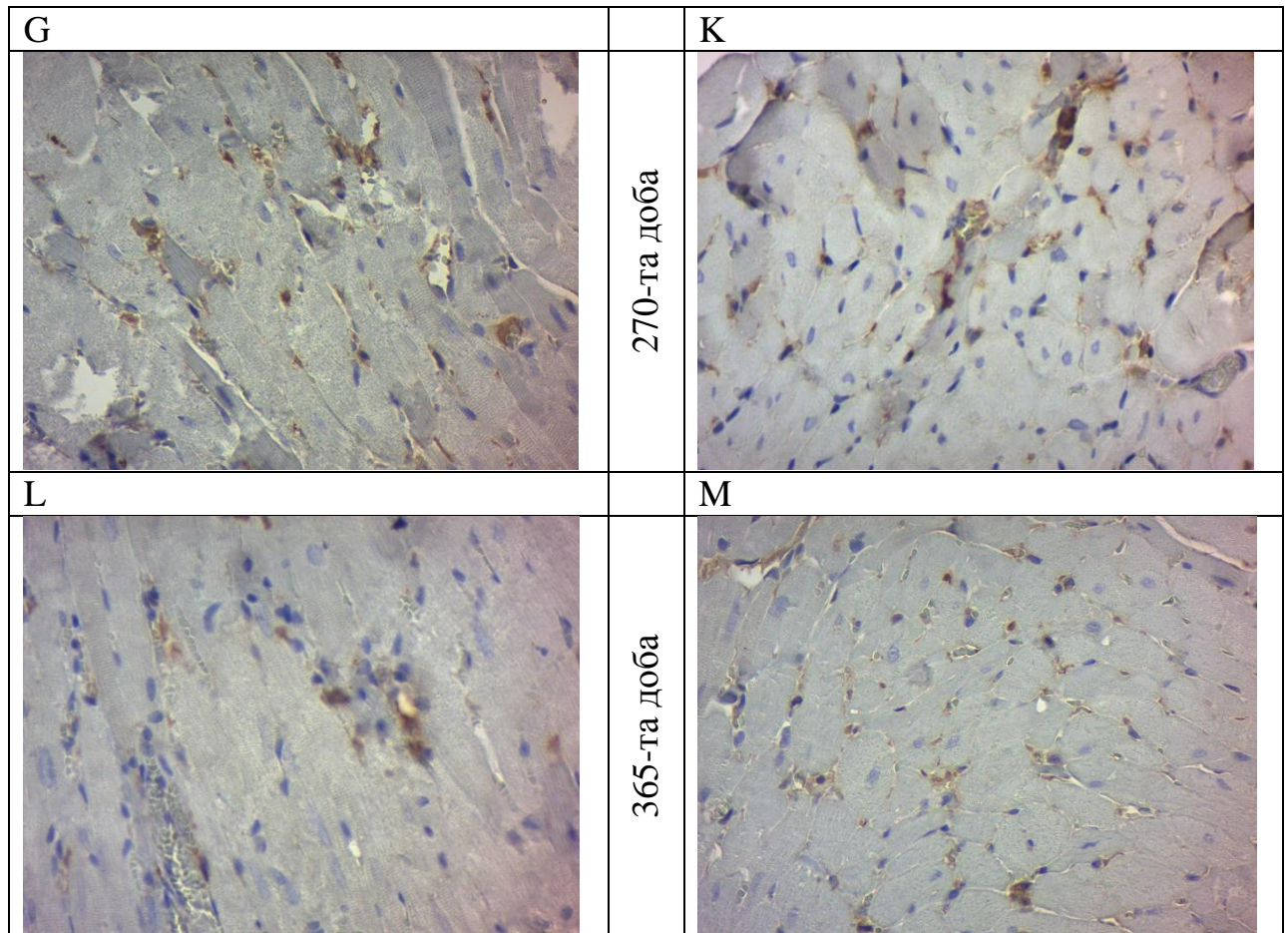


Рис. 5.3. Експресія каспази-3 в тканинах серця. Коричневим кольором відмічений білок в експериментальній групі (Т- трипторелін) тварин (А на 30-ту добу; С - 90-ту добу; Е - 180-ту добу; G - 270-ту добу; L - 365-ту добу експерименту), в експериментальній групі тварин (Трипторелін та Кверцетин (В - 30-та доба; D - 90-та доба; F- 180-та доба; К - 270-та доба; L - 365-та доба експерименту), збільшення x400

Менш виражена активність каспази-3 виявлялась у кардіоміоцитах де, як правило, забарвлювалося тільки одне ядро, цитоплазма була неактивною, що чітко візуалізувалось при забарвлених гематоксилін-еозином зрізах.

Найбільше число імунореактивних клітин інтерстиційного простору серця нами було виявлено на 30-й день спостереження в обох експериментальних групах (Табл.5.3).

Таблиця 5.3

Порівняння активності каспази-3 клітин ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну і кверцетину

Терміни	Трипторелін (Т)	Трипторелін + кверцетин (Т+К)
контроль	28,17±2,61	28,17±2,61
1 м	131,83±10,40 # *	84,67±9,87 # *
3 м	109,67±6,71 # *	69,17±1,92 # *
6 м	64,17±16,06 #	55,83±5,16 #
9 м	44,54±2,87 #	42,33±3,81 #
12 м	35,5±2,60 #	37,17±4,51 #
Примітка: порівняння К та терміни # <0.05; порівняння Т та ТіК* <0.05		

Аналіз показав, що каспаза 3, як зимогенний фермент при введенні триптореліну максимально збільшується на 30-у добу спостереження, а потім іде поступове зменшення цього показника на 180-у та 365-у доби, достовірно при $p < 0.05$.

5.4. Резюме:

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.

Активність каспази-3, при введенні триптореліна і кверцетина, зберігала основну закономірність (різке підвищення на 1 місяць, а потім поступовий спад до 12 місяця), але достовірність зменшення кількісного параметра суттєва лише на 1 та 3 місяці дослідження.

Додавання до раціону харчування кверцетину призводить до зменшення імунореактивності клітин ІМШ за експресією каспази-3, що можна розцінювати як явище компенсаторне, спрямоване на збалансованість

апоптозу в умовах гормональної дисфункції, викликаній пригніченням синтезу тестостерону.

Матеріали даного розділу опубліковані у статті:

Ворошилова Т, Шепітько В, Стецук Є. Активність каспази-3 в тканинах інтерстицію міокарда шлуночків при довготривалому блокуванні рилізінг-гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину. Act. Probl. of the Modern Med. [інтернет]. 26, Грудень 2024;24(4):194-00. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.4.194>

Voroshylova T, Shepitko V, Stetsuk Y, Boruta N, Vilkhova O, Rud M, Puzyryov G, Sych O, Miahkokhlib A. The impact of prolonged blockade of the releasing hormone on alterations in cardiac macrophage polarisation subsequent to quercetin administration in rats. Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal [Internet]. 2025 Jan. 4 ;20(8):633-8. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.20.8.2024.1471>

Тези доповіді:

Ворошилова Т. А. Характеристика тканинних макрофагів інтерстиційного простору серця при стрес індукованому порушенні синтезу лютеїнізуючого гормону введенням триптореліну у щурів / Т. А. Ворошилова, В. І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 16–18.

Ворошилова Т. Шепітько В, Стецук Є. Вплив тривалого застосування триптореліну на цикл оксиду азоту та ARG, як маркерів макрофагів M1 та M2 в інтерстиції міокарда шлуночків. Всеукраїнська наукова конференція «Клінічна анатомія та патологічна фізіологія: значущість для формування клінічного мислення майбутнього лікаря»; 4 жовт. 2024; Одеса. Одеса. Одеський національний медичний університет; 2024. с. 39-40.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

6.1. Механізми впливу триптореліну та триптореліну з кверцетином на гемомікроциркуляторне русло інтерстицію міокарда шлуночків у щурів

Інтерстицій міокарда шлуночків (ІМШ) у контрольній групі щурів представлений ПВСТ до складу якої входять судино-нервові утворення. До них відносяться судини ГМЦР (артеріоли, капіляри, венули). Клітини ПВСТ такі, як фібробласти, що являють основну популяцію клітин, міофібробласти МФ, яких значно менше, а також ТБ, М, ліпоцити та лімфоцити, яких можна знайти одиниці в полі зору [11, 184].

Кардіоміоцити – клітини майже прямокутної форми. У центральній частині міоцита розміщується 1-2 ядра овальної або видовженої форми. Міофібрили займають периферійну частину цитоплазми. Характерною морфологічною ознакою серцевого м'яза є контакти двох сусідніх міоцитів. Межі з'єднаних кінець-у-кінець кардіоміоцитів утворюють вставний диск.

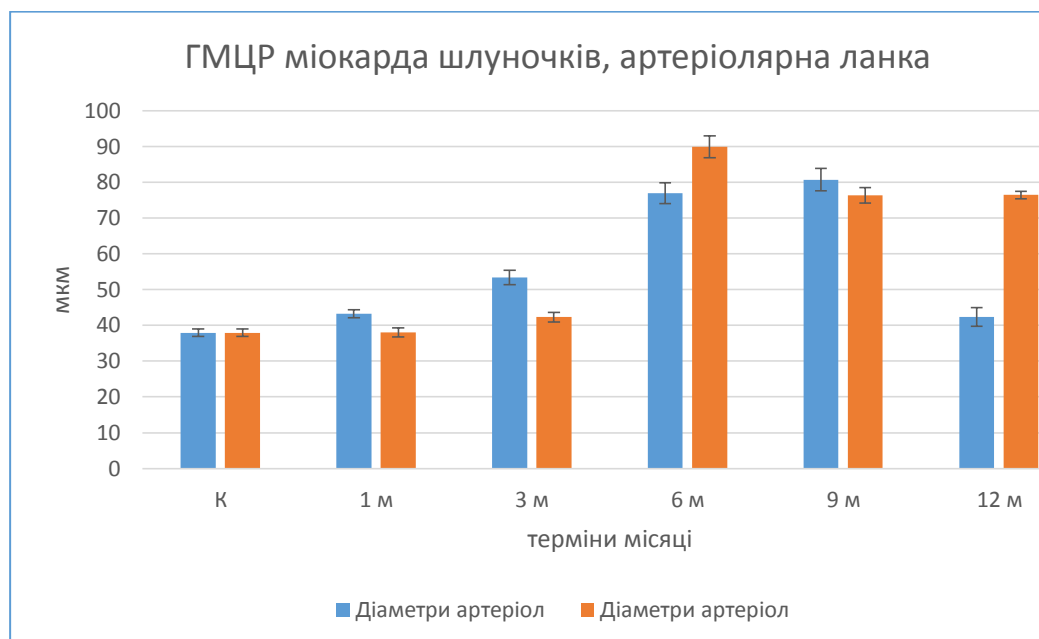
Для серцевої м'язової тканини характерна велика кількість мітохондрій, що розташовуються біля ядра. З цим пов'язана здатність серця до безперервної діяльності, оскільки мітохондрії – носії великої кількості ферментів, що беруть участь в окисно-відновних процесах [11, 185].

У цьому підрозділі ми розглянули структурні особливості ГМЦР ІМШ при довготривалому 12 місяців (365 діб) блокуванні синтезу рилізінг-гормону за допомогою речовини триптореліну через систему «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник».

Дефіцит тестостерону у чоловіків все частіше визнається в клінічних умовах, і його побічний вплив викликає підвищений інтерес у всьому світі. Як базові, так і клінічні дослідження надали докази того, що тестостерон діє на серцево-судинну систему як у нормальному стані, так і при хворобі.

Зокрема, низький рівень тестостерону в сироватці крові асоціюється з підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань у чоловіків. Проведений мета-аналіз перспективних досліджень в яких порівнювали чоловіків із нормальним рівнем тестостерону в сироватці крові підтвердили, що низький рівень тестостерону є прогнозом серцево-судинної смертності та захворюваності у чоловіків похилого віку. Крім того, було виявлено взаємодію між ендогенним загальним рівнем тестостерону та структурними і функціональними параметрами серця, але причинно-наслідковий зв'язок не був однозначно встановлений [186-189].

В нашій роботі (дані статистичного аналізу представлені на рис 6.1) ми спостерігали тенденцію до збільшення діаметру кровоносних судин, а саме артеріол і венул з максимумом на 6 місяць спостереження з різною тенденцією до збільшення діаметру самих судин. При збільшеному надходженні крові до серцевого м'яза та з пропорційним відтоком в групі з додаванням кверцетину. В той же час в 1 групі (без кверцетину) виявлявся незначний стаз крові. На нашу думку, цей факт, свідчить про компенсаторну дію препарату кверцетину на судинну стінку [190].



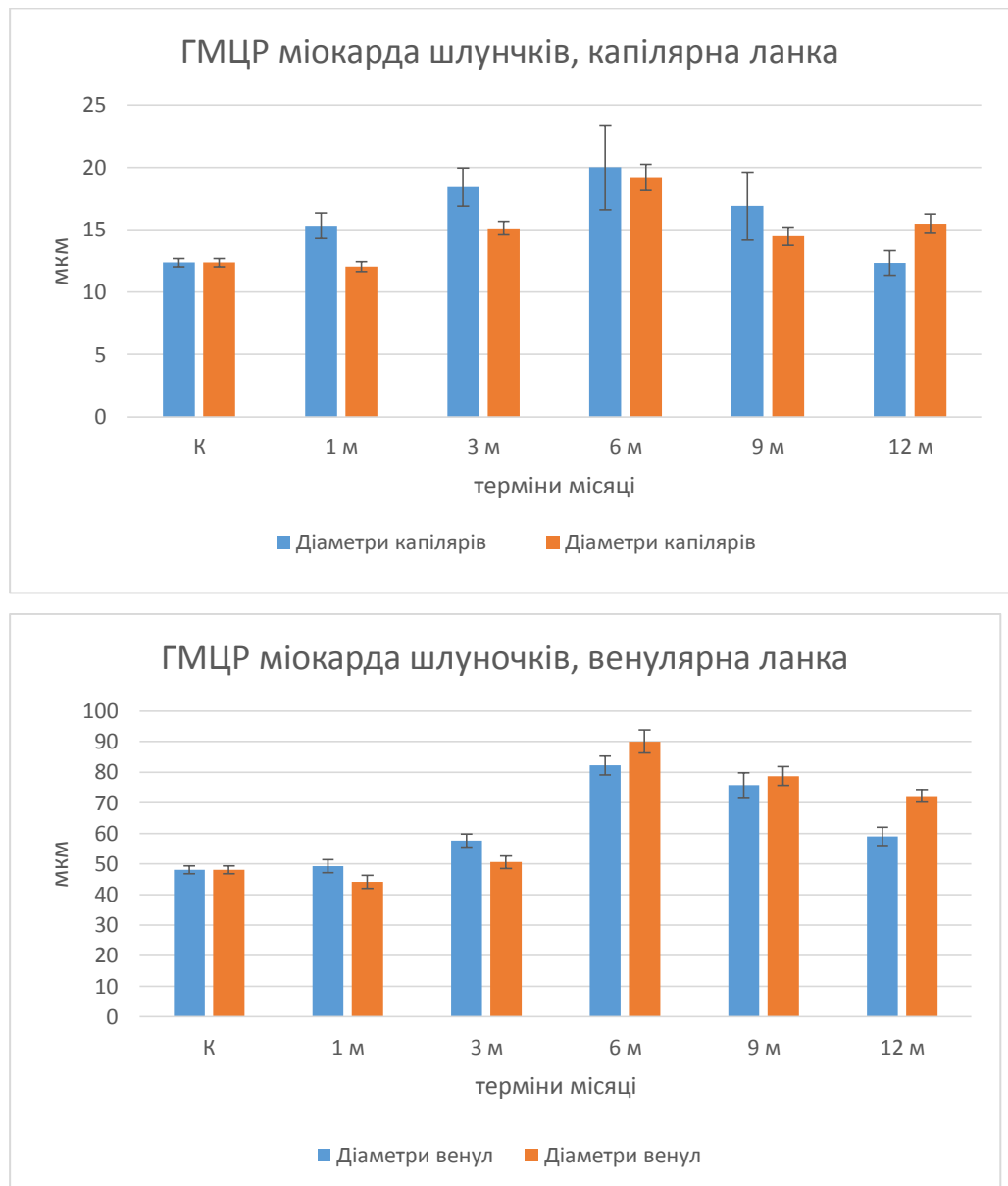


Рис 6.1. Реакція ланок ГМЦР ІМШ на введення триптореліну та триптореліну і кверцетину

Припускають, що вазопротекторні ефекти кверцетину реалізуються завдяки його здатності знижувати активність запального процесу в ендотелії судин, посилювати активність ендотеліальної NO-синтази (eNOS), і це в свою чергу, призводить до підвищення рівня оксиду азоту в ендотеліальних клітинах, що покращує їх функцію [191].

Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень ГМЦР міокарда при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-

сім'яник-серце». Дані про функціональну морфологію серця на етапах адаптації до змін ендокринної ланки, розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу цього органу.

Дослідження структурної організації ІМШ дало змогу нам встановити, що він складався з трьох шарів: ендомізія, перимізія та епімізія. В свою чергу кожний шар був представлений ПВСТ, яка мала сполучно-тканинний і клітинний компоненти. До складу сполучно-тканинного компонента входили колагенові і еластичні волокна, які формували футляр для кардіоміоцита, забезпечуючи скоротливу функцію останнього; серед клітинного компонента виділяли резидентні (фібробласти, міофібробласти, ліпоцити) та мігруючі (макрофаги, тканинні базофіли) клітини.

ГМЦР ІМШ контрольної групи тварин було представлено артеріолярною (резистивною) з середнім діаметром 37.96 ± 1.02 мкм, капілярною (обмінною) – 12.37 ± 0.33 мкм та венулярною (емнісною) – 48.03 ± 1.34 мкм ланками. Артеріолярна та венулярна ланки знаходились в перимізії ІМШ, в той час, як капілярна ланка була локалізована в ендомізії.

Реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризувалася змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшення кровонаповнення. Максимум цей показник сягнув на 6 місяць експерименту (для артеріол – $76,91 \pm 2,93$ та венул $82,23 \pm 3,09$ мкм в групі з введення триптореліну; та, без порушення відтоку в групі з додаванням кверцетину – для артеріол середній діаметр становив – $89,91 \pm 3,03$ і венул – $90,05 \pm 3,74$ мкм). Максимальний діаметр капілярної ланки виявлявся також на цей термін і в середньому становив при введенні триптореліну – $20,01 \pm 3,41$ мкм, а при введенні триптореліну з кверцетином – $19,21 \pm 1,05$ мкм.

6.2. Механізми впливу триптореліну та триптореліну з кверцетином на біохімічні показники в ІМШ у щурів.

Вплив оксидативного ушкодження. В нашому дослідженні було встановлено розвиток оксидативного ушкодження тканин серця за умов введення триптореліну до організму щурів. В науковій літературі наявні відомості щодо розвитку оксидативного ушкодження різних органів за умов введення триптореліну до організму [192, 193, 194]. Проте більшість авторів пов'язує розвиток оксидативного стресу із недостатнім синтезом гормонів, тобто із ефекторною дією триптореліну, а не з особливостями його метаболізму у клітинах [192, 193].

Основним механізмом фармакологічної дії триптореліну на організм є блокади синтезу лютеїнізуючого гормону [195, 196]. Вплив лютеїнізуючого гормону на окисно-відновні процеси не є однозначним, оскільки в науковій літературі є дані щодо розвитку оксидативного стресу як за умов надмірної концентрації цього гормону в крові, так і за умов його недостатності [197, 198]. Частина науковців вважає, що для організмів чоловічої статі більше значення має не концентрація лютеїнізуючого гормону, а концентрація тестостерону, продукція якого залежить від центральної регуляції, яка здійснюється лютеїнізуючим гормоном [199, 200].

Недостатність тестостерону супроводжується розвитком оксидативного стресу в різних органах та тканинах, в тому числі і в серцевому м'язі, де, на додаток до оксидативного стресу ушкоджуються міофібрили та мітохондрії [201, 202]. Розвиток оксидативного стресу за умов недостатності тестостерону також супроводжується апоптозом, що є особливо небезпечним для високодиференційованих та спеціалізованих клітин міокарду [203]. При цьому екзогенне відновлення рівнів тестостерону у організмі призводить до зменшення інтенсивності оксидативного ушкодження різних органів та тканин [204].

Тестостерон має здатність стимулювати експресію глутатіонпероксидази-3 (ГП-3), що запобігає апоптозу та аутофагії мітохондрій [205]. Тому, за умов зменшення рівня тестостерону у тканинах можливий дефіцит активності цього ферменту, що призводить до розвитку атрофічних змін. Дефіцит тестостерону також знижує активність IV мітохондріального комплексу та інтенсивність синтезу АТФ, що загрожує збільшенням продукції активних форм кисню від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга та активацією мітохондріального шляху апоптозу [206, 207].

Результати наших досліджень підтверджують порушення функціонального стану мітохондрій за умов тривалого введення триптореліну, оскільки продукція САР від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга зростає. Механізм позитивного впливу тестостерону на біогенез мітохондрій та процеси оксидативного ушкодження різних органів та тканин може полягати у тестостерон-індукованій активації транскрипційного фактора Nrf-2 [208]. Дефіцит тестостерону також активує потужний прооксидантний транскрипційний фактор NF-κB [209].

Разом із тим, системна активація транскрипційного фактора NF-κB за умов цукрового діабету або фармакологічного впливу може зменшити синтез тестостерону у клітинах Лейдіга, створюючи таким чином порочне коло у якому дефіцит тестостерону призводить до системної активації, транскрипційного фактора NF-κB, який потім призводить до подальшого зниження синтезу тестостерону [210, 211].

Механізмом безпосередньої активації транскрипційного фактора NF-κB за умов дефіциту тестостерону в організмі може бути надмірне утворення активних форм кисню, як внаслідок системного процесу (такого як ожиріння), так і внаслідок локального накопичення активних форм кисню, оскільки навіть перекис водню може знижувати синтез тестостерону у сім'яниках та активувати NF-κB [212, 213].

Закономірним результатом надмірної продукції активних форм кисню та неадекватної відповіді антиоксидантної системи є інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів, що підтверджується результатами нашого дослідження та також може бути пов'язано із недостатністю тестостерону, яка, в свою чергу, виникає через центральну блокаду синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном [214, 215].

Тестостерон має здатність стимулювати зміну поляризації макрофагів тканини в сторону переважання поляризації за M2-фенотипом (протизапальний фенотип), тому за умов дефіциту тестостерону спостерігається переважання поляризації макрофагів за M1-фенотипом (прозапальний фенотип) [216]. Макрофаги тканини поляризовані за M1-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 [217, 218].

Механізми впливу триптореліну на ферменти циклу оксиду азоту в ІМШ. За результатами нашого дослідження з 6 місяця в серці щурів спостерігається збільшення продукції оксиду азоту та зниження активності аргіназ, що загрожує розвитком нітрозативного ушкодження серцевого м'язу [219]. Разом із тим, на 1 та 3 місяці експерименту спостерігається зменшення активності індукцйбельної ізоформи NO-синтази та зростання активності аргіназ, що, у свою чергу, загрожує розвитком гіпоксичного ураження міокарду щурів [220].

В науковій літературі наведені дані щодо здатності триптореліну посилювати експресію генів нейрональної NO-синтази в нервовій системі, проте неведена обмежена кількість даних щодо впливу триптореліну на активність або експресію індукцйбельної NO-синтази [221].

Високі концентрації лютеїнізуючого гормону мають здатність інгібувати синтез оксиду азоту від NO-синтаз, тому зниження його концентрації під впливом триптореліну має підвищувати його продукцію

[222]. Проте в нашому дослідженні на 1 та 3 місяці введення триптореліну спостерігається зниження активності NO-синтаз. Зниження активності індукбельної NO-синтази за умов введення триптореліну може компенсуватись наявністю в серці потужної системи нітрат-нітритредуктаз, які здатні продукувати оксид азоту із нітритів та нітратів [223, 224].

Шостий місяць моделювання трипторелін-індукованої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону є межею адаптивних можливостей нітрат-нітритредуктазного шляху утворення оксиду азоту компенсувати зниження активності індукбельної NO-синтази, що співпадає із найвищими рівнями перекисного окиснення ліпідів, що спостерігалось в нашому дослідженні. Таким чином, з 6 місяця ключовим елементом в трипторелін-індукованих змінах в циклі оксиду азоту в серці щурів є запалення, індуковане ушкодженням тканин серця активними формами кисню.

Причиною зростання активності індукбельної NO-синтази після ушкодження може бути надмірна активація транскрипційного фактора NF-κB [225, 226]. Активація транскрипційного фактора NF-κB також підсилюється за умов зниження концентрації тестостерону, що індукована введенням триптореліну [227]. Окремим механізмом зростання активності індукбельної NO-синтази в тканинах серця може бути збільшення кількості макрофагів поляризованих за M1-фенотипом [228, 229].

Механізми протективного впливу водорозчинної форми кверцетину на трипторелін-індуковані зміни біохімічних показників в ІМШ щурів.

Кверцетин має потужні антиоксидантні властивості. Антиоксидантна дія кверцетину може полягати у прямому «поглинанні» вільних радикалів фенольними кільцями кверцетину [230, 231]. Окрім прямої нейтралізації вільних радикалів шляхом їх поглинання кверцетин також знижує продукцію активних форм кисню [232, 233].

Окрім прямого впливу на продукцію та утилізацію вільних радикалів кверцетин має потужний регуляторний вплив на редокс-чутливі транскрипційні фактори. Кверцетин здатен посилювати активацію

транскрипційного фактора Nrf-2, який контролює експресію генів антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, ферментів глутатіонового циклу, тощо) [234, 235]. Також кверцетин здатен інгібувати активацію транскрипційного фактора NF-κB [236, 237].

Таким чином, 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 Nrf-2-опосередкованого посилення активності ендogenous антиоксидантів.

Кверцетин здатен знижувати активність індукбельної ізоформи NO-синтази за рахунок інгібіторного впливу на активацію транскрипційного фактора NF-κB під контролем якого знаходяться гени індукбельної ізоформи NO-синтази [238, 239]. Гальмівний ефект кверцетину на активність індукбельної ізоформи NO-синтази також може бути пов'язаний із його здатністю регулювати поляризацію макрофагів тканин, спрямовуючи її у бік переважання M2-фенотипу [240, 241]. Здатність кверцетину сприяти поляризації макрофагів в сторону переважання M2-фенотипу може пояснити його активуючу властивість стосовно аргінази в серці щурів, які також отримують додатковий субстрат внаслідок інгібування індукбельної ізоформи NO-синтази кверцетином.

Варто зазначити, що інгібуючий вплив кверцетину на активність індукбельної ізоформи NO-синтази спостерігається з 1 місяця експерименту, проте це не призводить до гіпоксичного ушкодження міокарду, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду (маркера перекисного окиснення ліпідів) в серці щурів. Варто зазначити, що кверцетин має певні антигіпоксичні властивості, які, здебільшого, пов'язані із його антиоксидантними властивостями [242, 243].

Отже, кверцетин ефективно нормалізує порушення у функціонуванні циклу оксиду азоту в серці щурів, що викликані тривалим введенням триптореліну.

Таким чином, введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в серці щурів в наслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту. Кверцетин 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 місяць та 3 місяці) супроводжуються зниженням продукції оксиду азоту, 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 індукцбельної ізоформи NO-синтази ($p < 0/05$).

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 при введенні триптореліну.

6.3. Механізми впливу довготривалого блокування рилізінг-гормону на зміни в поляризації макрофагів, активності каспази-3 в ІМШ на тлі введення кверцетину у щурів

У цьому підрозділі ми розглянули зміни в експресії клітин макрофагального ряду за CD68+ та CD163+ при довготривалому (12 місяців) блокуванні синтезу рилізінг-гормону за допомогою речовини триптореліну [205] через систему “гіпоталамус-гіпофіз-сім’яник-серце”, а саме тестостерон

– кардіоміоцит-макрофаги щурів самців. Дані представлені на рис 6.2. Дефіцит тестостерону у чоловіків все частіше визнається в клінічних умовах, і його патологічні кореляти викликають підвищений інтерес досліджень у всьому світі.

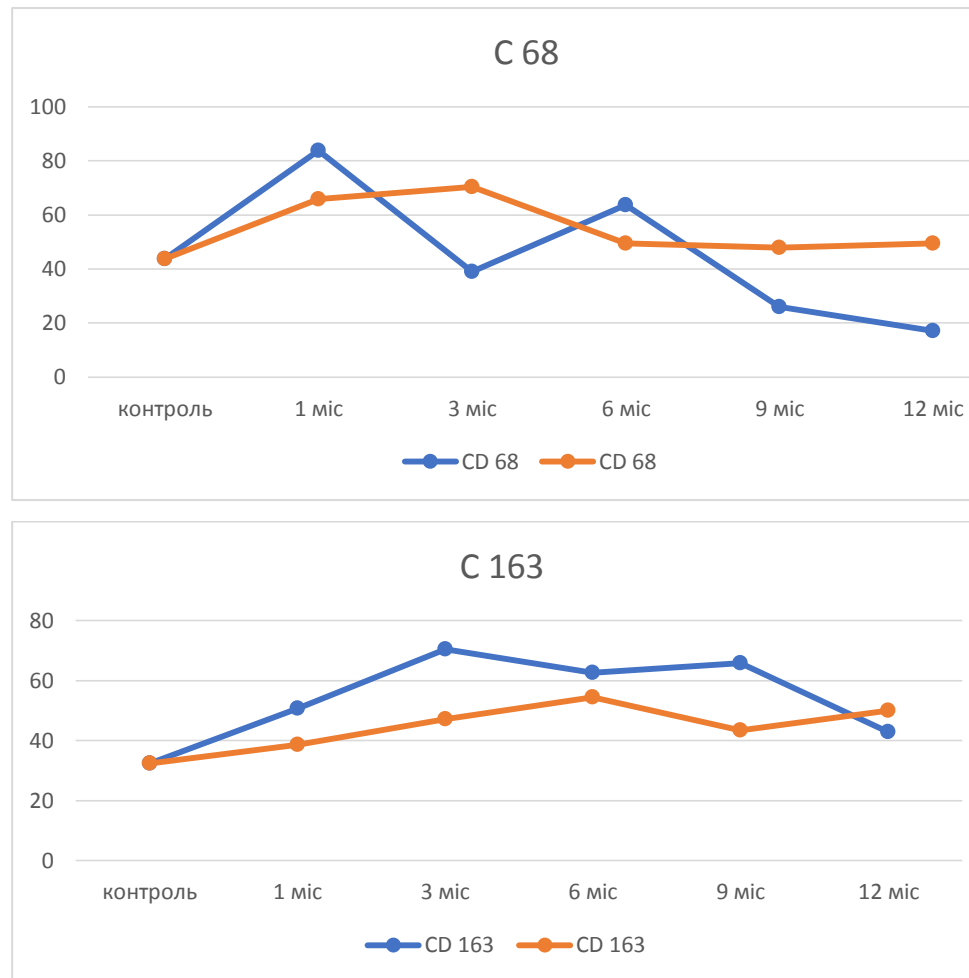


Рис 6.2. Вплив довготривалого блокування рилізінг-гормону на зміни в поляризації макрофагів M1 та M2 в ІМШ на тлі введення кверцетину у щурів

Серцеві фібробласти мають цілющі властивості, подібні до мезенхімальних стовбурових клітин. Вони здатні вивільняти паракринні фактори, які можуть послабити вплив пошкоджуючих чинників та сприяти виживанню кардіоміоцитів [212]. Наше дослідження також виявило відмінності в субпопуляціях лейкоцитів. Гранулоцити, особливо нейтрофіли, є міелоїдними лейкоцитами, які рекрутуються до міокарда протягом 1–2 днів після травми та тісно пов'язані з погіршенням серцевої функції [39].

Вважається, що нейтрофіли сприяють пошкодженню тканин шляхом вивільнення активних форм кисню, протеаз, і запальні цитокіни [39]. Дуже мало відомо про роль гранулоцитів у серцевому гомеостазі, але ми припускаємо, що наявність меншої кількості нейтрофілів є сприятливою для нормального функціонування серця, особливо після перенесеного стресу.

При вивченні питання клітинної гетерогенності між серцями самок і самців миші, було встановлено, що гонадні гормони є ключовими регуляторами у процесах проліферації, диференціювання та виконання функцій клітинами.

Однак, жодне дослідження на сьогоднішній день не перевіряло модуляцію серцевої клітинної гетерогенності ендокринними сигналами. Лікування кастрованих мишей тестостероном частково відновлює нормальні показники. Крім того, подібні гормонозалежні моделі також спостерігаються для інших популяцій клітин, таких як гранулоцити, МНСІІ-макрофаги та Т-клітини. Ці дані демонструють, що статеві гормони є критично важливими детермінантами клітинного складу серця, діючи залежно від типу клітини.

Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень тканин серця при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–серце”. Дані про функціональну морфологію макрофагів серця на етапах адаптації до змін ендокринної ланки, розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу серця.

В науковій літературі наявні відомості щодо розвитку оксидативного ушкодження різних органів за умов введення триптореліну до організму [203]. Проте більшість авторів пов’язує розвиток оксидативного стресу із недостатнім синтезом гормонів, тобто із ефекторною дією триптореліну, а не з особливостями його метаболізму у клітинах з відсутністю тестостерону [204]. При проведенні нашого дослідження було встановлено, що розвиток оксидативного ушкодження тканин серця відбувається за умов введення триптореліну до організму піддослідних тварин.

Таким чином, дані літератури свідчать про наявність різних механізмів клітинної загибелі клітин серця. Проте, при цьому не враховується гетерогенність клітин, а саме паренхіматозного та стромального компонента серця. Відсутність даних про особливості та шляхи активації процесів апоптозу при блокуванні тестостерону обумовили проведення даного дослідження для виявлення нових мішеней для терапевтичних впливів.

Результати нашого дослідження вказують на те, що введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. Додавання кверцетину порушувало ландшафт антигенпрезентуючих клітин, який характеризувався змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2. Їх кількісним співвідношенням є важливим не тільки для розуміння функціонування цих клітин, а й для розробки ефективних методів лікування на основі моделювання поляризаційного їх статусу.

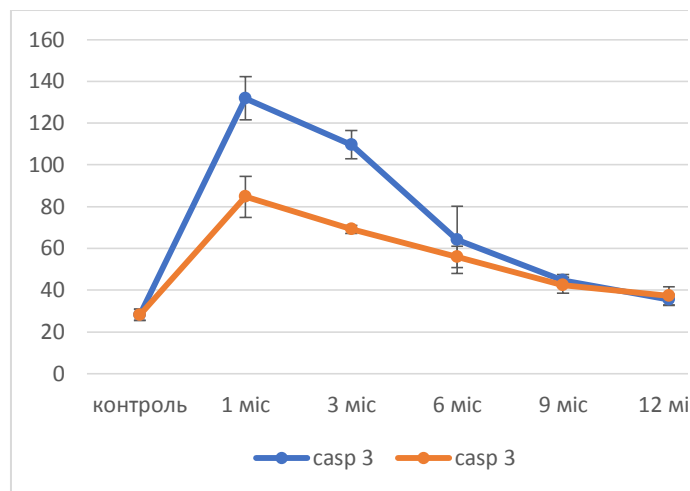


Рис 6.3. Активність каспази-3 в ІМШ на тлі введення кверцетину у щурів

Активність каспази-3 при введенні триптореліна і кверцетина, зберігала основну закономірність (різке підвищення на 1 місяць, а потім поступовий спад до 12 місяця), але достовірність зменшення кількісного параметра суттєва лише на 1 та 3 місяці дослідження при $p < 0/05$. Додавання до раціону харчування кверцетину призводило до зменшення імунореактивності клітин ІМШ за експресією каспази-3 що можна розцінювати як явище

компенсаторне, спрямоване на збалансованість апаптозу в умовах гормональної дисфункції по пригніченню синтезу тестостерону.

Додавання до раціону харчування кверцетину призводить до зменшення імунореактивності клітин серця за експресією каспази-3 що можна розцінювати як явище компенсаторне, спрямоване на збалансованість апаптозу в умовах гормональної дисфункції по пригніченню синтезу тестостерону.

ВИСНОВКИ:

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у встановленні особливостей реакції структурних компонентів інтерстицію міокарда шлуночків (ІМШ) при трипторелін-індукованій центральній депривації синтезу лютеїнізуючого гормону та корекції цього стану введенням кверцетину.

1. У контрольній групі ІМШ представлений ПВСТ, яка має сполучно-тканинний і клітинний компоненти, а саме: сполучно-тканинний компонент представлений колагеновими і еластичними волокнами з судинами, клітинні компоненти представлені резидентними (фібробластами, міофібробластами, ліпоцитами) та мігруючими (макрофагами, тканинними базофілами, лімфоцитами) клітинами які формують мікрооточення для кардіоміоцита, що забезпечує гомеостаз останнього.

2. ГМЦР ІМШ, у контрольній групі, представлено артеріолярною з середнім діаметром 37.96 ± 1.02 мкм, капілярною – 12.37 ± 0.33 мкм та венулярною – 48.03 ± 1.34 мкм ланками. Артеріолярна та венулярна ланки знаходились в перимізії ІМШ, в той час, як капілярна ланка знаходилась в ендомізії та, безпосередньо, біля кожного кардіоміоцита.

3. Реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшення кровонаповнення максимумом якого становить на 6-й місяць експерименту (для артеріол – $76,91 \pm 2,93$ мкм та венул $82,23 \pm 3,09$ мкм в групі з введення триптореліну; та без порушення відтоку в групі з додаванням кверцетину – для артеріол середній діаметр становив – $89,91 \pm 3,03$ мкм і венул – $90,05 \pm 3,74$ мкм). Максимальний діаметр капілярної ланки виявлявся також на цей термін і в середньому становив при введенні триптореліну – $20,01 \pm 3,41$ мкм, а при введенні триптореліну і кверцетину – $19,21 \pm 1,05$ мкм.

4. Введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в серці щурів в наслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту. 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.

5. Перші терміни блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (1-й та 3-й місяці) супроводжуються зниженням продукції оксиду азоту, що загрожує розвитком ішемічних ушкоджень міокарду. З 6-го місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном спостерігається надмірна продукція оксиду азоту в серці щурів за рахунок збільшення активності індукцибельної ізоформи NO-синтази ($p < 0,05$). Кверцетин ефективно зменшує надмірну продукцію оксиду азоту в серці щурів, яка спостерігається з 6-го місяця експерименту та не викликає гіпоксичних ушкоджень міокарду, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи при введенні триптореліну.

6. Введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів за CD68+ та CD163+ експресією ІМШ. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпризентуючих 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.

7. Активність Каспази-3, при введенні триптореліна і кверцетина, зберігала основну закономірність (різке підвищення на 1-й місяць, а потім поступовий спад до 12-го місяця), але достовірність зменшення кількісного параметра суттєва лише на 1-й та 3-й місяці дослідження при $p < 0,05$. Додавання до раціону харчування кверцетину призводить до зменшення

реактивності клітин ІМШ за експресією каспази-3, що можна розцінювати як явище компенсаторне, спрямоване на збалансованість апаптозу в умовах гормональної дисфункції по пригніченню синтезу тестостерону.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ:

1. Введення триптореліну призводило до, розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), за рахунок набряку та ремоделюванню сполучної тканини, активації макрофагів та тканинних базофілів по типу асептичного запалення в ІМШ з явними проявами морфологічних ознак на 3-й-12-й місяці дослідження.

2. Кверцетин ефективно зменшує надмірну продукцію оксиду азоту в серці щурів, яка спостерігається з 6-го 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.

3. Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень ІМШ міокарда при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-серце». Дані про функціональну морфологію серця на етапах адаптації до змін ендокринної ланки, розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу серця.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Reyes-Soffer, G., Ginsberg, H. N., Berglund, L., Duell, P. B., Heffron, S. P., Kamstrup, P. R., & American Heart Association Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; and Council on Peripheral Vascular Disease. (2022). Lipoprotein (a): a genetically determined, causal, and prevalent risk factor for atherosclerotic cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and vascular biology*, 42(1), e48-e60. doi: 10.1161/ATV.000000000000147
2. Sciarrone, D. F., McLaughlin, R. A., Argarini, R., To, M. S., Naylor, L. H., Bolam, L. M., ... & Green, D. J. (2022). Visualising and quantifying microvascular structure and function in patients with heart failure using optical coherence tomography. *The Journal of Physiology*, 600(17), 3921-3929. doi: 10.1113/JP282940
3. Shahjehan, R. D., & Bhutta, B. S. (2023). Coronary Artery Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. PMID: 33231974
4. Tan, Z., Zhao, Y., Zheng, Y., & Pan, Y. (2022). The effect of blood flow-restricted low resistance training on microvascular circulation of myocardium in spontaneously hypertensive rats. *Frontiers in Physiology*, 13, 829718. doi: 10.3389/fphys.2022.829718
5. Crawford ED, Schally AV. The role of FSH and LH in prostate cancer and cardiometabolic comorbidities. *Can J Urol*. 2020 Apr;27(2):10167-10173. PMID: 32333736.
6. Fernandes Corrêa RA, Ribeiro Júnior RF, Mendes SBO, Dos Santos PM, da Silva MVA, Silva DF, Biral IP, de Batista PR, Vassallo DV, Bittencourt AS, Stefanon I, Fernandes AA. Testosterone deficiency reduces the effects of late cardiac remodeling after acute myocardial infarction in rats. *PLoS One*. 2019 Mar 21; 14(3):e0213351. doi: 10.1371/journal.pone.0213351.

7. Barbonetti A, D'Andrea S, Francavilla S. Testosterone replacement therapy. *Andrology*. 2020 Nov; 8(6):1551-1566. doi:10.1111/andr.12774.
8. Akhigbe RE, Hamed MA, Odetayo AF, Akhigbe TM, Ajayi AF, Ajibogun FAH. Omega-3 fatty acid rescues ischaemia/perfusion-induced testicular and sperm damage via modulation of lactate transport and xanthine oxidase/uric acid signaling. *Biomed Pharmacother*. 2021 Oct; 142:111975. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111975.
9. Akseh S, Karimi MA, Safaie N, Valizadeh A, Rahmanpour D, Pezeshkian M, Nouri M, Faridvand Y, Jodati A. The serum levels of testosterone in coronary artery disease patients; relation to NO, eNOS, endothelin-1, and disease severity. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2021 Sep 9. doi: 10.1515/hmbci-2021-0026.
10. Kirby M, Hackett G, Ramachandran S. Testosterone and the Heart. *Eur Cardiol*. 2019 Jul 11;14(2):103–110. doi:10.15420/ecr.2019.13.1
11. do Val Lima, P. R., Ronconi, K. S., Morra, E. A., Rodrigues, P. L., Ávila, R. A., Merlo, E., ... & Ribeiro Júnior, R. F. (2023). Testosterone deficiency impairs cardiac interfibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1206387. doi: 10.3389/fendo.2023.1206387
12. Huang, Y. P., Peng, C., & Peter, R. E. (1991). Metabolism of gonadotropin-releasing hormone in goldfish: serum clearance and tissue uptake studies. *General and comparative endocrinology*, 84(1), 67-75. doi: 10.1016/0016-6480(91)90065-e
13. Ren X, Fu X, Zhang X, Chen S, Huang S, Yao L, Liu G. Testosterone regulates 3T3-L1 pre-adipocyte differentiation and epididymal fat accumulation in mice through modulating macrophage polarization. *Biochem Pharmacol*. 2017 Sep 15; 140:73–88. doi: 10.1016/j.bcp.2017.05.022.
14. Voroshilova T. A., Shepitko V. I., Stetsuk Ye. V., Akimov O. Ye., Puzyryov G. S. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of

luteinizing hormone synthesis. *Світ медицини та біології*. 2022 1 (79), 179–183. doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183

15. Akseh S, Karimi MA, Safaie N, Valizadeh A, Rahmanpour D, Pezeshkian M, Nouri M, Faridvand Y, Jodati A. The serum levels of testosterone in coronary artery disease patients; relation to NO, eNOS, endothelin-1, and disease severity. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2021 Sep 9. doi: 10.1515/hmbci-2021-0026.

16. Zhao X, Wang C, Dai S, Liu Y, Zhang F, Peng C, Li Y. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Jul 16;2022:4591134. doi: 10.1155/2022/4591134.

17. Jiang JJ, Zhang GF, Zheng JY, Sun JH, Ding SB. Targeting Mitochondrial ROS-Mediated Ferroptosis by Quercetin Alleviates High-Fat Diet-Induced Hepatic Lipotoxicity. *Front Pharmacol*. 2022 Apr 12;13:876550. doi: 10.3389/fphar.2022.876550.

18. Baba RA, Mir HA, Mokhdomi TA, Bhat HF, Ahmad A, Khanday FA. Quercetin suppresses ROS production and migration by specifically targeting Rac1 activation in gliomas. *Front Pharmacol*. 2024 Jan 31;15:1318797. doi: 10.3389/fphar.2024.1318797.

19. Han X, Xu T, Fang Q, Zhang H, Yue L, Hu G, Sun L. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy. *Redox Biol*. 2021 Aug;44:102010. doi: 10.1016/j.redox.2021.102010.

20. Albadrani GM, BinMowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin prevents myocardial infarction adverse remodeling in rats by attenuating TGF- β 1/Smad3 signaling: Different mechanisms of action. *Saudi J Biol Sci*. 2021 May;28(5):2772-2782. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.02.007.

21. Hu Q, Qu C, Xiao X, Zhang W, Jiang Y, Wu Z, Song D, Peng X, Ma X, Zhao Y. Flavonoids on diabetic nephropathy: advances and therapeutic opportunities. *Chin Med*. 2021 Aug 7;16(1):74. doi: 10.1186/s13020-021-00485-4.
22. Cui S, Wu Q, Wang J, Li M, Qian J, Li S. Quercetin inhibits LPS-induced macrophage migration by suppressing the iNOS/FAK/paxillin pathway and modulating the cytoskeleton. *Cell Adh Migr*. 2019 Dec;13(1):1-12. doi: 10.1080/19336918.2018.1486142.
23. Adeoluwa OA, Olayinka JN, Adeoluwa GO, Akinluyi ET, Adeniyi FR, Fafure A, Nebo K, Edem EE, Eduviere AT, Abubakar B. Quercetin abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like symptoms by inhibiting neuroinflammation via microglial NLRP3/NFκB/iNOS signaling pathway. *Behav Brain Res*. 2023 Jul 26;450:114503. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114503.
24. Li L, Jiang W, Yu B, Liang H, Mao S, Hu X, Feng Y, Xu J, Chu L. Quercetin improves cerebral ischemia/reperfusion injury by promoting microglia/macrophages M2 polarization via regulating PI3K/Akt/NF-κB signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2023; 168: 115653. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115653.
25. Луцик ОД, Чайковський ЮБ, редактори. Гістологія. Цитологія. Ембріологія: підручник. Вінниця: Нова Книга;2018. 592 с.
26. Степанчук АП. Будова серця людини в нормі та при набутих поєднаних мітральних вадах серця (морфо-експериментальне дослідження) [дисертація]. Харків: ВДНЗ України “Українська медична стоматологічна академія”; 2013. 350 с.
27. Денисенко СВ, Денисенко МВ, Передера СБ. Біоетичні особливості використання лабораторних тварин в експерименті. *Вісник Укр. мед. стоматології*. 2009;9(2):39-44,
28. Krinke GJ, ed. *The laboratory rat*. Amsterdam: Elsevier-Academic Press, 2000: 75-108; 311-9.,
29. Джалілова ЕА, Пальтов ЄВ, Кривко ЮЯ. Топографоанатомічні особливості будови грудної клітки і серця щурів в нормі та

рентгеновазографія його судин. Клінічна та експериментальна патологія. 2010;9-3(33):34-37.

30. Покотило ВЮ. Морфологічні особливості міокарда та його гемомікроциркуляторного русла під впливом опію в експерименті [дисертація]. Івано-Франківськ: ДВНЗ Івано-Франківський національний медичний університет, 2018. 194 с.

31. Когут РР. Морфологічні особливості двостулкового і тристулкового клапанів серця в нормі та за умов тривалого впливу опію в експерименті [дисертація]. Львів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, 2020. 173 с.

32. Dye B, Lincoln J. The Endocardium and Heart Valves. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2020;12(12):a036723. Published 2020 Dec 1. doi:10.1101/cshperspect.a036723

33. Симівська РР. Морфологічні особливості клапанних апаратів серця людини й експериментальних тварин у нормі та за умов впливу патогенних чинників. Праці НТШ. Медичні науки. 2018;54(2):26-32. doi:10.126.612.014.46-019-018.63.

34. Litviňuková M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Worth CL, Lindberg EL, et al. Cells of the adult human heart. Nature [Internet]. 2020 Sep 24;1–7. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2797-4>

35. Горбунов АА. Пространственная реконструкция соединительнотканного компонента миокарда крысы. Морфология. 2008.Т.II (2):10-14

36. Travers JG, Kamal FA, Robbins J, Yutzey KE, Blaxall BC. Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. Circ Res. 2016 Mar 18;118(6):1021-40. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306565. PMID: 26987915; PMCID: PMC4800485..

37. Yang B, Qiao Y, Yan D, Meng Q. Targeting Interactions between Fibroblasts and Macrophages to Treat Cardiac Fibrosis. Cells. 2024 Apr

30;13(9):764. doi: 10.3390/cells13090764. PMID: 38727300; PMCID: PMC11082988

38. Frangogiannis NG. Cardiac fibrosis. *Cardiovasc Res.* 2021 May 25;117(6):1450-1488. doi: 10.1093/cvr/cvaa324. PMID: 33135058; PMCID: PMC8152700.

39. Lafuse WP, Wozniak DJ, Rajaram MVS. Role of Cardiac Macrophages on Cardiac Inflammation, Fibrosis and Tissue Repair. *Cells.* 2020 Dec 31;10(1):51. doi: 10.3390/cells10010051. PMID: 33396359; PMCID: PMC7824389.

40. Gordon S, Martinez-Pomares L. Physiological roles of macrophages. *Pflugers Arch.* 2017 Apr;469(3-4):365-374. doi: 10.1007/s00424-017-1945-7. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28185068; PMCID: PMC5362657

41. <https://moz.gov.ua/uk/zahvorjuvannja-sercevo-sudinnoi-sistemi-faktori-riziku-ta-profilaktika>

42. <https://angiology.com.ua/ua/archive/2010/9-10%2838-39%29/article-357/epidemiologichna-situaciya-shchodo-sercevo-sudinnih-zahvoryuvan-v-ukrayini-richne-monitoruvannya>

43. Hulsmans M, Sam F, Nahrendorf M. Monocyte and macrophage contributions to cardiac remodeling. *J MolCellCardiol.* 2016 Apr;93:149-55. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.11.015. Epub 2015 Nov 21. PMID: 26593722; PMCID: PMC4846552.

44. Pinto AR, Ilinykh A, Ivey MJ, Kuwabara JT, D'Antoni ML, Debuque R, Chandran A, Wang L, Arora K, Rosenthal NA, Tallquist MD. Revisiting Cardiac Cellular Composition. *CircRes.* 2016 Feb 5;118(3):400-9. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307778. Epub 2015 Dec 3. PMID: 26635390; PMCID: PMC4744092.

45. Dick SA, Macklin JA, Nejat S, Momen A, Clemente-Casares X, Althagafi MG, Chen J, Kantores C, Hosseinzadeh S, Aronoff L, Wong A, Zaman R, Barbu I, Besla R, Lavine KJ, Razani B, Ginhoux F, Husain M, Cybulsky MI, Robbins CS, Epelman S. Self-renewing resident cardiac macrophages limit adverse

remodeling following myocardial infarction. *Nat Immunol.* 2019 Jan;20(1):29-39. doi: 10.1038/s41590-018-0272-2. Epub 2018 Dec 11. Erratum in: *Nat Immunol.* 2019 May;20(5):664. doi: 10.1038/s41590-019-0363-8. PMID: 30538339; PMCID: PMC6565365.

46. Aguiar CM, Gawdat K, Legere S, Marshall J, Hassan A, Kienesberger PC, Pulinilkunnil T, Castonguay M, Brunt KR, Legare JF. Fibrosis independent atrial fibrillation in older patients is driven by substrate leukocyte infiltration: diagnostic and prognostic implications to patients undergoing cardiac surgery. *J Transl Med.* 2019 Dec 10;17(1):413. doi: 10.1186/s12967-019-02162-5. PMID: 31822289; PMCID: PMC6905054.

47. Epelman S, Lavine KJ, Beaudin AE, Sojka DK, Carrero JA, Calderon B, Brija T, Gautier EL, Ivanov S, Satpathy AT, Schilling JD, Schwendener R, Sergin I, Razani B, Forsberg EC, Yokoyama WM, Unanue ER, Colonna M, Randolph GJ, Mann DL. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation. *Immunity.* 2014 Jan 16;40(1):91-104. doi: 10.1016/j.immuni.2013.11.019. PMID: 24439267; PMCID: PMC3923301.

48. Hashimoto D, Chow A, Noizat C, Teo P, Beasley MB, Leboeuf M, Becker CD, See P, Price J, Lucas D, Greter M, Mortha A, Boyer SW, Forsberg EC, Tanaka M, van Rooijen N, García-Sastre A, Stanley ER, Ginhoux F, Frenette PS, Merad M. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity.* 2013 Apr 18;38(4):792-804. doi: 10.1016/j.immuni.2013.04.004. PMID: 23601688; PMCID: PMC3853406.

49. Sawyer RT, Strausbauch PH, Volkman A. Resident macrophage proliferation in mice depleted of blood monocytes by strontium-89. *Lab Invest.* 1982 Feb;46(2):165-70. PMID: 6174824.

50. Volkman A, Chang NC, Strausbauch PH, Morahan PS. Differential effects of chronic monocyte depletion on macrophage populations. *Lab Invest.* 1983 Sep;49(3):291-8. PMID: 6887784.

51. Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, Mehler MF, Conway SJ, Ng LG, Stanley ER, Samokhvalov IM, Merad M. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*. 2010 Nov 5;330(6005):841-5. doi: 10.1126/science.1194637. Epub 2010 Oct 21. PMID: 20966214; PMCID: PMC3719181.

52. Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, Szabo-Rogers H, Cagnard N, Kierdorf K, Prinz M, Wu B, Jacobsen SE, Pollard JW, Frampton J, Liu KJ, Geissmann F. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science*. 2012 Apr 6;336(6077):86-90. doi: 10.1126/science.1219179. Epub 2012 Mar 22. PMID: 22442384.

53. Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, Strauss-Ayali D, Viukov S, Guilliams M, Misharin A, Hume DA, Perlman H, Malissen B, Zelzer E, Jung S. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity*. 2013 Jan 24;38(1):79-91. doi: 10.1016/j.immuni.2012.12.001. Epub 2012 Dec 27. Erratum in: *Immunity*. 2013 May 23;38(5):1073-9. PMID: 23273845; PMCID: PMC3908543.

54. Jakubzick C, Gautier EL, Gibbings SL, Sojka DK, Schlitzer A, Johnson TE, Ivanov S, Duan Q, Bala S, Condon T, van Rooijen N, Grainger JR, Belkaid Y, Ma'ayan A, Riches DW, Yokoyama WM, Ginhoux F, Henson PM, Randolph GJ. Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. *Immunity*. 2013 Sep 19;39(3):599-610. doi: 10.1016/j.immuni.2013.08.007. Epub 2013 Sep 5. PMID: 24012416; PMCID: PMC3820017.

55. Bajpai G, Schneider C, Wong N, Bredemeyer A, Hulsmans M, Nahrendorf M, Eelman S, Kreisel D, Liu Y, Itoh A, Shankar TS, Selzman CH, Drakos SG, Lavine KJ. The human heart contains distinct macrophage subsets with divergent origins and functions. *Nat Med*. 2018 Aug;24(8):1234-1245. doi: 10.1038/s41591-018-0059-x. Epub 2018 Jun 11. PMID: 29892064; PMCID: PMC6082687.

56. Bajpai G, Bredemeyer A, Li W, Zaitsev K, Koenig AL, Lokshina I, Mohan J, Ivey B, Hsiao HM, Weinheimer C, Kovacs A, Epelman S, Artyomov M, Kreisel D, Lavine KJ. Tissue Resident CCR2- and CCR2+ Cardiac Macrophages Differentially Orchestrate Monocyte Recruitment and Fate Specification Following Myocardial Injury. *Circ Res.* 2019 Jan 18;124(2):263-278. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.314028. PMID: 30582448; PMCID: PMC6626616.
57. Hu S, Yang M, Huang S, Zhong S, Zhang Q, Ding H, Xiong X, Hu Z, Yang Y. Different Roles of Resident and Non-resident Macrophages in Cardiac Fibrosis. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Mar 7;9:818188. doi: 10.3389/fcvm.2022.818188. PMID: 35330948; PMCID: PMC8940216.
58. Prabhu SD, Frangogiannis NG. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. *Circ Res.* 2016 Jun 24;119(1):91-112. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303577. PMID: 27340270; PMCID: PMC4922528.
59. Zhang X, Mosser DM. Macrophage activation by endogenous danger signals. *J Pathol.* 2008 Jan;214(2):161-78. doi: 10.1002/path.2284. PMID: 18161744; PMCID: PMC2724989.
60. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 2014 Mar 3;6:13. doi: 10.12703/P6-13. PMID: 24669294; PMCID: PMC3944738.
61. Gong T, Liu L, Jiang W, Zhou R. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol.* 2020 Feb;20(2):95-112. doi: 10.1038/s41577-019-0215-7. Epub 2019 Sep 26. PMID: 31558839.
62. Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction—from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Res.* 2016 Sep;365(3):563-81. doi: 10.1007/s00441-016-2431-9. Epub 2016 Jun 21. PMID: 27324127; PMCID: PMC5010608.
63. Tan Y, Li X, Prabhu SD, Brittian KR, Chen Q, Yin X, McClain CJ, Zhou Z, Cai L. Angiotensin II plays a critical role in alcohol-induced cardiac nitrative damage, cell death, remodeling, and cardiomyopathy in a protein kinase

C/nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent manner. *J Am Coll Cardiol.* 2012 Apr 17;59(16):1477-86. doi: 10.1016/j.jacc.2011.12.034. PMID: 22497828; PMCID: PMC3331727.

64. Yue Y, Yang X, Feng K, Wang L, Hou J, Mei B, Qin H, Liang M, Chen G, Wu Z. M2b macrophages reduce early reperfusion injury after myocardial ischemia in mice: A predominant role of inhibiting apoptosis via A20. *Int J Cardiol.* 2017 Oct 15;245:228-235. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.07.085. Epub 2017 Jul 26. Erratum in: *Int J Cardiol.* 2019 Mar 1;278:311. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.06.033. PMID: 28764858.

65. Mahmoud AI, Porrello ER. Turning back the cardiac regenerative clock: lessons from the neonate. *Trends Cardiovasc Med.* 2012 Jul;22(5):128-33. doi: 10.1016/j.tcm.2012.07.008. Epub 2012 Aug 14. PMID: 22902092.

66. Wei KH, Lin IT, Chowdhury K, Lim KL, Liu KT, Ko TM, Chang YM, Yang KC, Lai SB. Comparative single-cell profiling reveals distinct cardiac resident macrophages essential for zebrafish heart regeneration. *Elife.* 2023 Jul 27;12:e84679. doi: 10.7554/eLife.84679. PMID: 37498060; PMCID: PMC10411971.

67. Aisagbonhi O, Rai M, Ryzhov S, Atria N, Feoktistov I, Hatzopoulos AK. Experimental myocardial infarction triggers canonical Wnt signaling and endothelial-to-mesenchymal transition. *Dis Model Mech.* 2011 Jul;4(4):469-83. doi: 10.1242/dmm.006510. Epub 2011 Feb 14. PMID: 21324930; PMCID: PMC3124051.

68. Chitu V, Stanley ER. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation. *Curr Opin Immunol.* 2006 Feb;18(1):39-48. doi: 10.1016/j.coi.2005.11.006. Epub 2005 Dec 6. PMID: 16337366.

69. Meziani L, Mondini M, Petit B, Boissonnas A, Thomas de Montpreville V, Mercier O, Vozenin MC, Deutsch E. CSF1R inhibition prevents radiation pulmonary fibrosis by depletion of interstitial macrophages. *Eur Respir J.* 2018 Mar 1;51(3):1702120. doi: 10.1183/13993003.02120-2017. PMID: 29496785.

70. Buechler MB, Fu W, Turley SJ. Fibroblast-macrophage reciprocal interactions in health, fibrosis, and cancer. *Immunity*. 2021 May 11;54(5):903-915. doi: 10.1016/j.immuni.2021.04.021. PMID: 33979587.
71. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev*. 2008 May 15;22(10):1276-312. doi: 10.1101/gad.1653708. PMID: 18483217; PMCID: PMC2732412.
72. Duffield JS, Forbes SJ, Constandinou CM, Clay S, Partolina M, Vuthoori S, Wu S, Lang R, Iredale JP. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair. *J Clin Invest*. 2005 Jan;115(1):56-65. doi: 10.1172/JCI22675. PMID: 15630444; PMCID: PMC539199.
73. Hinz B, Lagares D. Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2020 Jan;16(1):11-31. doi: 10.1038/s41584-019-0324-5. Epub 2019 Dec 2. PMID: 31792399; PMCID: PMC7913072.
74. McKleroy W, Lee TH, Atabai K. Always cleave up your mess: targeting collagen degradation to treat tissue fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013 Jun 1;304(11):L709-21. doi: 10.1152/ajplung.00418.2012. Epub 2013 Apr 5. PMID: 23564511; PMCID: PMC3680761.
75. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*. 2005 Dec;5(12):953-64. doi: 10.1038/nri1733. PMID: 16322748.
76. Asada N, Takeishi S, Frenette PS. Complexity of bone marrow hematopoietic stem cell niche. *Int J Hematol*. 2017;106:45–54. doi: 10.1007/s12185-017-2262-9.
77. Klammer S, Voermans C. The role of novel and known extracellular matrix and adhesion molecules in the homeostatic and regenerative bone marrow microenvironment. *Cell Adh Migr*. 2014;8(6):563-577. doi:10.4161/19336918.2014.968501.
78. Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014;505(7483):327-334. doi:10.1038/nature12984.

79. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* 2004 Dec;25(12):677-86. doi: 10.1016/j.it.2004.09.015. PMID: 15530839.
80. Huang X, Li Y, Fu M, Xin HB. Polarizing Macrophages In Vitro. *Methods Mol Biol.* 2018;1784:119-126. doi: 10.1007/978-1-4939-7837-3_12. PMID: 29761394; PMCID: PMC8875934.
81. Arnold CE, Whyte CS, Gordon P, Barker RN, Rees AJ, Wilson HM. A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function in vitro and in vivo. *Immunology.* 2014 Jan;141(1):96-110. doi: 10.1111/imm.12173. PMID: 24088176; PMCID: PMC3893853.
82. Ehrchen J, Steinmüller L, Barczyk K, Tenbrock K, Nacken W, Eisenacher M, Nordhues U, Sorg C, Sunderkötter C, Roth J. Glucocorticoids induce differentiation of a specifically activated, anti-inflammatory subtype of human monocytes. *Blood.* 2007 Feb 1;109(3):1265-74. doi: 10.1182/blood-2006-02-001115. Epub 2006 Oct 3. PMID: 17018861.
83. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdt S, Gordon S, Hamilton JA, Ivashkiv LB, Lawrence T, Locati M, Mantovani A, Martinez FO, Mege JL, Mosser DM, Natoli G, Saeij JP, Schultze JL, Shirey KA, Sica A, Suttles J, Udalova I, van Ginderachter JA, Vogel SN, Wynn TA. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 2014 Jul 17;41(1):14-20. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.008. PMID: 25035950; PMCID: PMC4123412.
84. Iqbal AJ, McNeill E, Kapellos TS, Regan-Komito D, Norman S, Burd S, Smart N, Machermer DE, Stylianou E, McShane H, Channon KM, Chawla A, Greaves DR. Human CD68 promoter GFP transgenic mice allow analysis of 257 monocyte to macrophage differentiation in vivo. *Blood.* 2014 Oct 9;124(15):e33-44. doi: 10.1182/blood-2014-04-568691. Epub 2014 Jul 16. PMID: 25030063; PMCID: PMC4192756.

85. Zhang J, Li S, Liu F, Yang K. Role of CD68 in tumor immunity and prognosis prediction in pan-cancer. *Sci Rep.* 2022 May 12;12(1):7844. doi: 10.1038/s41598-022-11503-2. PMID: 35550532; PMCID: PMC9098459.
86. Barros MH, Hauck F, Dreyer JH, Kempkes B, Niedobitek G. Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages. *PLoS One.* 2013 Nov 15;8(11):e80908. doi: 10.1371/journal.pone.0080908. PMID: 24260507; PMCID: PMC3829941.
87. Brooks E, Simmons-Arnold L, Naud S, Evans MF, Elhosseiny A. Multinucleated giant cells' incidence, immune markers, and significance: a study of 172 cases of papillary thyroid carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2009 Jun;3(2):95-9. doi: 10.1007/s12105-009-0110-9. Epub 2009 Mar 10. PMID: 19644545; PMCID: PMC2715459.
88. Polfliet MM, Fabriek BO, Daniëls WP, Dijkstra CD, van den Berg TK. The rat macrophage scavenger receptor CD163: expression, regulation and role in inflammatory mediator production. *Immunobiology.* 2006;211(6-8):419-25. doi: 10.1016/j.imbio.2006.05.015. Epub 2006 Jul 24. PMID: 16920481.
89. Etzerodt A, Moestrup SK. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxid Redox Signal.* 2013 Jun 10;18(17):2352-63. doi: 10.1089/ars.2012.4834. Epub 2012 Oct 19. PMID: 22900885; PMCID: PMC3638564.
90. Salmi S, Siiskonen H, Sironen R, Tyynelä-Korhonen K, Hirschovits-Gerz B, Valkonen M, Auvinen P, Pasonen-Seppänen S. The number and localization of CD68+ and CD163+ macrophages in different stages of cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2019 Jun;29(3):237-247. doi: 10.1097/CMR.0000000000000522. PMID: 30399061; PMCID: PMC6493694.
91. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Analogues. [Updated 2018 Mar 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547863>. 258

92. Brunton LL, Chabner BA, Knollman BC, eds. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 2011, pp. 1764

93. Boccon-Gibod L, van der Meulen E, Persson BE. An update on the use of gonadotropin-releasing hormone antagonists in prostate cancer. *Ther Adv Urol*. 2011 Jun;3(3):127-40. doi: 10.1177/1756287211414457. PMID: 21904569; PMCID: PMC3159401.

94. Van Poppel H, Klotz L. Gonadotropin-releasing hormone: an update review of the antagonists versus agonists. *Int J Urol*. 2012 Jul;19(7):594-601. doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.02997.x. Epub 2012 Mar 14. PMID: 22416801.

95. Bolton EM, Lynch T. Are all gonadotrophin-releasing hormone agonists equivalent for the treatment of prostate cancer? A systematic review. *BJU Int*. 2018 Sep;122(3):371-383. doi: 10.1111/bju.14168. Epub 2018 May 8. PMID: 29438592.

96. Mottet N, Bellmunt J, Briers E, et al. Guidelines on prostate cancer. 2016. Available at: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer>.

97. Breul J, Lundström E, Purcea D, Venetz WP, Cabri P, Dutailly P, et al. Efficacy of Testosterone Suppression with Sustained-Release Triptorelin in Advanced Prostate Cancer. *Adv Ther*. 2017 Feb;34(2):513-523. doi: 10.1007/s12325-016-0466-7. Epub 2016 Dec 27. PMID: 28028737; PMCID: PMC5331090.

98. Merseburger AS, Hupe MC. An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Adv Ther*. 2016 Jul;33(7):1072-93. doi: 10.1007/s12325-016-0351-4. Epub 2016 May 31. PMID: 27246172; PMCID: PMC4939158.

99. Hands KE, Alvarez A, Bruder JM. Gonadotropin-releasing hormone agonist-induced pituitary apoplexy in treatment of prostate cancer: case report and review of literature. *Endocr Pract*. 2007 Oct;13(6):642-6. doi: 10.4158/EP.13.6.642. PMID: 17954421.

100. Guerra Y, Lacuesta E, Marquez F, Raksin PB, Utset M, Fogelfeld L. Apoplexy in non functioning pituitary adenoma after one dose of leuprolide as treatment for prostate cancer. *Pituitary*. 2010;13(1):54-9. doi: 10.1007/s11102-009-0202-2. PMID: 19842040.

101. Metbulut AP, Adigüzel KT, İslamoğlu C, Boyraz M, Mısırlıoğlu ED. Evaluation of Hypersensitivity Reactions with Leuprolide Acetate and Triptorelin Acetate in Children. *Indian J Endocrinol Metab*. 2021 NovDec;25(6):527-531. doi: 10.4103/ijem.ijem_333_21. Epub 2022 Feb 17. PMID: 35355908; PMCID: PMC8959209.

102. Kirkgoz T, Karakoc-Aydiner E, Bugrul F, Yavas Abali Z, Helvacıoğlu D, Kiykim A, et al. Management of Systemic Hypersensitivity Reactions to Gonadotropin-Releasing Hormone Analogues during Treatment of Central Precocious Puberty. *Horm Res Paediatr*. 2020;93(1):66-72. doi: 10.1159/000505329. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31972562.

103. Miao J, Yan Q, Wang L, Wang X. Three cases of transient hyperthyroidism after triptorelin treatment - case report and literature review. *Gynecol Endocrinol*. 2018 Sep;34(9):734-735. doi: 10.1080/09513590.2018.1445710. Epub 2018 Feb 27. PMID: 29484896.

104. Cheung TK, Lo KW, Lam CW, Lau W, Lam PK. A crossover study of triptorelin and leuprorelin acetate. *Fertil Steril*. 2000 Aug;74(2):299-305. doi: 10.1016/s0015-0282(00)00598-7. Erratum in: *Fertil Steril* 2000 Nov;74(5):1060. PMID: 10927048.

105. Bianchi V, Mezzani A. Androgens and cardiac diseases. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2013 Dec;80(4):161-9. doi: 10.4081/monaldi.2013.5232. PMID: 25087292.

106. Dunn JF, Nisula BC, Rodbard D. Transport of steroid hormones: Binding of 21 endogenous steroids to both testosterone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin in human plasma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1981; 53: 58-68.

107. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996; 93: 5925-5930.
108. Sato T, Matsumoto T, Yamada T, Watanabe T, Kawano H, Kato S. Late onset of obesity in male androgen receptor-deficient (arko) mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2003; 300: 167-171.
109. Sato T, Matsumoto T, Kawano H, et al. Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004; 101: 1673-1678.
110. Kawano H, Sato T, Yamada T, et al. Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; 100: 9416-9421.
111. Ikeda Y, Aihara K, Sato T, et al. Androgen receptor gene knockout male mice exhibit impaired cardiac growth and exacerbation of angiotensin ii-induced cardiac fibrosis. *Journal of Biological Chemistry* 2005; 280: 29661-29666
112. Grohe C, Kahlert S, Lobbert K, Vetter H. Expression of oestrogen receptor alpha and beta in rat heart: Role of local oestrogen synthesis. *Journal of Endocrinology* 1998;156: R1-7.
113. Marcus R, Krause L, Weder AB, Dominguez-Meja A, Schork NJ, Julius S. Sex-specific determinants of increased left ventricular mass in the tecumseh blood pressure study. *Circulation* 1994; 90: 928-936.
114. Yang X, Wang Y, Yan S, Sun L, Yang G, Li Y, Yu C. Effect of testosterone on the proliferation and collagen synthesis of cardiac fibroblasts induced by angiotensin II in neonatal rat. *Bioengineered*. 2017 Jan 2;8(1):14-20. doi: 10.1080/21655979.2016.1227141. Epub 2016 Oct 28. PMID: 27791460; PMCID: PMC5172501.
115. Argenziano M, Tiscornia G, Moretta R, Casal L, Potilinski C, Amorena C, Gras EG. Arrhythmogenic effect of androgens on the rat heart. *J*

Physiol Sci. 2017 Jan;67(1):217-225. doi: 10.1007/s12576-016-0459-y. Epub 2016 May 30. PMID: 27241707; PMCID: PMC10717165.

116. Regouat N, Cheboub A, Benahmed M, Belarbi A, Hadj-Bekkouche F. Effect of testosterone supplementation on nitroso-redox imbalance, cardiac metabolism markers, and S100 proteins expression in the heart of castrated male rats. *Andrology*. 2018 Jan;6(1):74-85. doi: 10.1111/andr.12449. Epub 2017 Dec 1. PMID: 29194990.

117. Ieda Y, Aihara K, Yoshida S, et al. Androgen-androgen receptor system protects against angiotensin ii-induced vascular remodeling. *Endocrinology* 2009; 150: 2857-2864.

118. Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, Gwathmey JK, Green GE, Schiebinger RJ. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation* 1998; 98: 256-261.

119. Sánchez-Más J, Turpín MC, Lax A, Ruipérez JA, Valdés Chávarri M, Pascual-Figal DA. Differential actions of eplerenone and spironolactone on the protective effect of testosterone against cardiomyocyte apoptosis in vitro. *Rev Esp Cardiol*. 2010 Jul;63(7):779-87. English, Spanish. doi: 10.1016/s1885-5857(10)70162-6. PMID: 20609311.

120. Fernandes Corrêa RA, Ribeiro Júnior RF, Mendes SBO, Dos Santos PM, da Silva MVA, Silva DF, Biral IP, de Batista PR, Vassallo DV, Bittencourt AS, Stefanon I, Fernandes AA. Testosterone deficiency reduces the effects of late cardiac remodeling after acute myocardial infarction in rats. *PLoS One*. 2019 Mar 21;14(3):e0213351. doi: 10.1371/journal.pone.0213351. Erratum in: *PLoS One*. 2019 Dec 12;14(12):e0226664. doi: 10.1371/journal.pone.0226664. PMID: 30897106; PMCID: PMC6428328.

121. Chistiakov DA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Role of androgens in cardiovascular pathology. *Vasc Health Risk Manag*. 2018 Oct 15;14:283-290. doi: 10.2147/VHRM.S173259. PMID: 30410343; PMCID: PMC6198881.

122. Turhan S, Tulunay C, Güleç S, Ozdöl C, Kilickap M, Altin T, Gerece M, Erol C. The association between androgen levels and premature coronary artery disease in men. *Coron Artery Dis.* 2007 May;18(3):159-62. doi: 10.1097/MCA.0b013e328012a928. PMID: 17429287.

123. Jones TH. Testosterone deficiency: a risk factor for cardiovascular disease? *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Aug;21(8):496-503. doi: 10.1016/j.tem.2010.03.002. Epub 2010 Apr 8. PMID: 20381374.

124. Keating NL, O'Malley AJ, Smith MR. Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2006 Sep 20;24(27):4448-56. doi: 10.1200/JCO.2006.06.2497. PMID: 16983113.

125. Hu JR, Duncan MS, Morgans AK, Brown JD, Meijers WC, Freiberg MS, Salem JE, Beckman JA, Moslehi JJ. Cardiovascular Effects of Androgen Deprivation Therapy in Prostate Cancer: Contemporary Meta-Analyses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020 Mar;40(3):e55-e64. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313046. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31969015; PMCID: PMC7047549.

126. Naróg D, Sobkowiak A. Electrochemistry of Flavonoids. *Molecules.* 2023 Nov 16;28(22):7618. doi: 10.3390/molecules28227618. PMID: 38005343; PMCID: PMC10674230.

127. Gutiérrez-Grijalva EP, Picos-Salas MA, Leyva-López N, Criollo-Mendoza MS, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Flavonoids and Phenolic Acids from Oregano: Occurrence, Biological Activity and Health Benefits. *Plants (Basel).* 2017 Dec 26;7(1):2. doi: 10.3390/plants7010002. PMID: 29278371; PMCID: PMC5874591.

128. Castaldo L, Narváez A, Izzo L, Graziani G, Gaspari A, Minno GD, Ritieni A. Red Wine Consumption and Cardiovascular Health. *Molecules.* 2019 Oct 8;24(19):3626. doi: 10.3390/molecules24193626. PMID: 31597344; PMCID: PMC6804046.

129. GutiErrez-Grijalva EP, Ambriz-Pere DL, Leyva-Lopez N, Castillo-Lopez RI, Heiedia JB. Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. *Arch Latinoam Nutr.* 2016 Jun;66(2):87-100. PMID: 29737665.

130. Perez-Vizcaino F, Duarte J. Flavonols and cardiovascular disease. *Mol Aspects Med.* 2010 Dec;31(6):478-94. doi: 10.1016/j.mam.2010.09.002. Epub 2010 Sep 15. PMID: 20837053.

131. Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD. Effects of the dietary flavonoid quercetin upon performance and health. *Curr Sports Med Rep.* 2009 JulAug;8(4):206-13. doi: 10.1249/JSR.0b013e3181ae8959. PMID: 19584608. 249

132. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn Rev.* 2016 Jul-Dec;10(20):84-89. doi: 10.4103/0973-7847.194044. PMID: 28082789; PMCID: PMC5214562.

133. Aguirre L, Arias N, Macarulla MT, Gracia A, Portillo MP. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *Open Nutraceuticals Journal.* 2011;4:189–198.

134. Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Inflammation and Immunity. *Nutrients.* 2016 Mar 15;8(3):167. doi: 10.3390/nu8030167. PMID: 26999194; PMCID: PMC4808895.

135. Wagner CE, Jurutka PW, Marshall PA, Groy TL, van der Vaart A, Ziller JW, Furmick JK, Graeber ME, Matro E, Miguel BV, Tran IT, Kwon J, Tedeschi JN, Moosavi S, Danishyar A, Philp JS, Khamees RO, Jackson JN, Grupe DK, Badshah SL, Hart JW. Modeling, synthesis and biological evaluation of potential retinoid X receptor (RXR) selective agonists: novel analogues of 4-[1-(3,5,5,8,8-pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)ethynyl]benzoic acid (bexarotene). *J Med Chem.* 2009 Oct 8;52(19):5950-66. doi: 10.1021/jm900496b. PMID: 19791803; PMCID: PMC2765782.

136. Wang TY, Li Q, Bi KS. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian J Pharm Sci.* 2018 Jan;13(1):12-23.

doi: 10.1016/j.ajps.2017.08.004. Epub 2017 Aug 15. PMID: 32104374; PMCID: PMC7032191.

137. Patil V.M., Masand N. Anticancer Potential of Flavonoids: Chemistry, Biological Activities, and Future Perspectives. In: Rahman A., editor. *Studies in Natural Products Chemistry*. 1st ed. Volume 59. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 2019. pp. 401–430.

138. Darband SG, Kaviani M, Yousefi B, Sadighparvar S, Pakdel FG, Attari JA, Mohebbi I, Naderi S, Majidinia M. Quercetin: A functional dietary flavonoid with potential chemo-preventive properties in colorectal cancer. *J Cell Physiol*. 2018 Sep;233(9):6544-6560. doi: 10.1002/jcp.26595. Epub 2018 Apr 16. PMID: 29663361.

139. Brunetti C, Di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. *Int J Mol Sci*. 2013 Feb 7;14(2):3540-55. doi: 10.3390/ijms14023540. PMID: 23434657; PMCID: PMC3588057.

140. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001 Oct;74(4):418-25. doi: 10.1093/ajcn/74.4.418. PMID: 11566638.

141. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *ScientificWorldJournal*. 2013 Dec 29;2013:162750. doi: 10.1155/2013/162750. PMID: 24470791; PMCID: PMC3891543.

142. Terao J. Factors modulating bioavailability of quercetin-related flavonoids and the consequences of their vascular function. *Biochem Pharmacol*. 2017 Sep 1;139:15-23. doi: 10.1016/j.bcp.2017.03.021. Epub 2017 Apr 2. PMID: 28377278.

143. Mozaffarian D, Wu JHY. Flavonoids, Dairy Foods, and Cardiovascular and Metabolic Health: A Review of Emerging Biologic Pathways. *Circ Res*. 2018 Jan 19;122(2):369-384. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309008. PMID: 29348256; PMCID: PMC5781235.

144. Kiokias S, Proestos C, Oreopoulou V. Effect of Natural Food Antioxidants against LDL and DNA Oxidative Changes. *Antioxidants (Basel)*. 2018 Oct 3;7(10):133. doi: 10.3390/antiox7100133. PMID: 30282925; PMCID: PMC6211048.

145. Dalgaard F, Bondonno NP, Murray K, Bondonno CP, Lewis JR, Croft KD, Kyrø C, Gislason G, Scalbert A, Cassidy A, Tjønneland A, Overvad K, Hodgson JM. Associations between habitual flavonoid intake and hospital admissions for atherosclerotic cardiovascular disease: a prospective cohort study. *Lancet Planet Health*. 2019 Nov;3(11):e450-e459. doi: 10.1016/S2542-5196(19)30212-8. Erratum in: *Lancet Planet Health*. 2019 Dec;3(12):e499. doi: 10.1016/S2542-5196(19)30238-4. PMID: 31777336.

146. Annapurna A, Reddy CS, Akondi RB, Rao SR. Cardioprotective actions of two bioflavonoids, quercetin and rutin, in experimental myocardial infarction in both normal and streptozotocin-induced type I diabetic rats. *J Pharm Pharmacol*. 2009 Oct;61(10):1365-74. doi: 10.1211/jpp/61.10.0014. PMID: 19814870.

147. Hamaguchi S, Abe K, Komatsu M, Kainuma J, Namekata I, Tanaka H. Positive Lusitropic Effect of Quercetin on Isolated Ventricular Myocardia from Normal and Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Biol Pharm Bull*. 2021;44(12):1894-1897. doi: 10.1248/bpb.b21-00580. PMID: 34853274.

148. Jing Z, Wang Z, Li X, Li X, Cao T, Bi Y, Zhou J, Chen X, Yu D, Zhu L, Li S. Protective Effect of Quercetin on Posttraumatic Cardiac Injury. *Sci Rep*. 2016 Jul 29;6:30812. doi: 10.1038/srep30812. PMID: 27470932; PMCID: PMC4965739.

149. Liu CJ, Yao L, Hu YM, Zhao BT. Effect of Quercetin-Loaded Mesoporous Silica Nanoparticles on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats and Its Mechanism. *Int J Nanomedicine*. 2021 Feb 2;16:741-752. doi: 10.2147/IJN.S277377. PMID: 33564233; PMCID: PMC7866914.

150. Slavin JL, Lloyd B. Health benefits of fruits and vegetables. *Adv Nutr.* 2012 Jul 1;3(4):506-16. doi: 10.3945/an.112.002154. PMID: 22797986; PMCID: PMC3649719.
151. Faggio C, Sureda A, Morabito S, Sanches-Silva A, Mocan A, Nabavi SF, Nabavi SM. Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. *Eur J Pharmacol.* 2017 Jul 15;807:91-101. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.04.009. Epub 2017 Apr 13. PMID: 28412372.
152. Xie J, Xiong J, Ding LS, Chen L, Zhou H, Liu L, Zhang ZF, Hu XM, Luo P, Qing LS. A efficient method to identify cardioprotective components of Astragali Radix using a combination of molecularly imprinted polymers-based knockout extract and activity evaluation. *J Chromatogr A.* 2018 Nov 16;1576:10-18. doi: 10.1016/j.chroma.2018.09.027. Epub 2018 Sep 17. PMID: 30245072.
153. Lilamand M, Kelaiditi E, Guyonnet S, Antonelli Incalzi R, Raynaud-Simon A, Vellas B, Cesari M. Flavonoids and arterial stiffness: promising perspectives. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014 Jul;24(7):698-704. doi: 10.1016/j.numecd.2014.01.015. Epub 2014 Jan 31. PMID: 24656854.
154. Testai L, Martelli A, Cristofaro M, Breschi MC, Calderone V. Cardioprotective effects of different flavonoids against myocardial ischaemia/reperfusion injury in Langendorff-perfused rat hearts. *J Pharm Pharmacol.* 2013 May;65(5):750-6. doi: 10.1111/jphp.12032. Epub 2013 Feb 26. PMID: 23600393.
155. Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, Rabovsky A, Symons JD, Jalili T. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr.* 2007 Nov;137(11):2405-11. doi: 10.1093/jn/137.11.2405. PMID: 17951477.
156. Chopra M, Fitzsimons PE, Strain JJ, Thurnham DI, Howard AN. Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clin Chem.* 2000 Aug;46(8 Pt 1):1162-70. PMID: 10926898.
157. Egert S, Bosy-Westphal A, Seiberl J, Kürbitz C, Settler U, Plachta-Danielzik S, Wagner AE, Frank J, Schrezenmeir J, Rimbach G, Wolffram S,

Müller MJ. Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: a double-blinded, placebo-controlled cross-over study. *Br J Nutr.* 2009 Oct;102(7):1065-74. doi: 10.1017/S0007114509359127. Epub 2009 Apr 30. PMID: 19402938.

158. Ahn J, Lee H, Kim S, Park J, Ha T. The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Sep 5;373(4):545-9. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.06.077. Epub 2008 Jun 27. Erratum in: *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Jan 7;404(1):579. PMID: 18586010.

159. Park HJ, Yang JY, Ambati S, Della-Fera MA, Hausman DB, Rayalam S, Baile CA. Combined effects of genistein, quercetin, and resveratrol in human and 3T3-L1 adipocytes. *J Med Food.* 2008 Dec;11(4):773-83. doi: 10.1089/jmf.2008.0077. PMID: 19053873.

160. Strobel P, Allard C, Perez-Acle T, Calderon R, Aldunate R, Leighton F. Myricetin, quercetin and catechin-gallate inhibit glucose uptake in isolated rat adipocytes. *Biochem J.* 2005 Mar 15;386(Pt 3):471-8. doi: 10.1042/BJ20040703. PMID: 15469417; PMCID: PMC1134865.

161. Yang JY, Della-Fera MA, Rayalam S, Ambati S, Hartzell DL, Park HJ, Baile CA. Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sci.* 2008 May 7;82(19-20):1032-9. doi: 10.1016/j.lfs.2008.03.003. Epub 2008 Mar 21. PMID: 18433793.

162. Pereira MA, O'Reilly E, Augustsson K, Fraser GE, Goldbourt U, Heitmann BL, Hallmans G, Knekt P, Liu S, Pietinen P, Spiegelman D, Stevens J, Virtamo J, Willett WC, Ascherio A. Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Arch Intern Med.* 2004 Feb 23;164(4):370-6. doi: 10.1001/archinte.164.4.370. PMID: 14980987.

163. Huxley RR, Neil HA. The relation between dietary flavonol intake and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies.

Eur J Clin Nutr. 2003 Aug;57(8):904-8. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601624. PMID: 12879084.

164. Kirkland JL, Tchkonja T. Senolytic drugs: from discovery to translation. *J Intern Med*. 2020 Nov;288(5):518-536. doi: 10.1111/joim.13141. Epub 2020 Aug 4. PMID: 32686219; PMCID: PMC7405395.

165. Rosen CJ, Bouxsein ML. Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone? *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006 Jan;2(1):35-43. doi: 10.1038/ncprheum0070. PMID: 16932650.

166. Takada I, Kouzmenko AP, Kato S. Wnt and PPARgamma signaling in osteoblastogenesis and adipogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 2009 Aug;5(8):442-7. doi: 10.1038/nrrheum.2009.137. Epub 2009 Jul 7. PMID: 19581903.

167. Wang Y, Che L, Chen X, He Z, Song D, Yuan Y, Liu C. Repurpose dasatinib and quercetin: Targeting senescent cells ameliorates postmenopausal osteoporosis and rejuvenates bone regeneration. *Bioact Mater*. 2023 Jan 20;25:13-28. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.01.009. PMID: 37056256; PMCID: PMC10088057.

168. Animal models for the molecular and mechanistic study of lymphatic biology and disease. / W. S. Shin, S. G. Rockson, M. Merad [et al.] // *Ann. N – Y. Acad. Sci.* – 2008. – № 1131. – P. 50–74.]

169. Закон України “Про захист тварин від жорстокого поводження” IV від 21.02.2006 р., № 3447.;

170. Use of animals in research: [secretary general E. Banda].– European Science Foundation Policy briefing. – 2000. – № 9. – P. 1–6.

171. Общие этические принципы работы с экспериментальными животными при проведении медицинских и биологических исследований / Національний конгрес з біоетики (Київ 17-20 вересня 2001 р.) // *Ж. АМН України.* – 2001. – Т. 7, №4. – С. 814–816.].

172. Albadrani GM, Binmowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin protects against experimentally-induced myocardial infarction in rats by an antioxidant potential and concomitant activation

of signal transducer and activator of transcription. *J Physiol Pharmacol.* 2020 Dec; 71(6): 125-7. doi: 10.26402/jpp.2020.

173. Botté MC, Lerrant Y, Lozach A, Bérault A, Counis R, Kottler ML. LH down-regulates gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor, but not GnRH, mRNA levels in the rat testis. *J Endocrinol.* 1999; 162(3): 40915. doi:10.1677/joe.0.1620409.265

174. Меркулов ГА. Курс патологической техники. Медицина, Ленинградское отделение. 1969: 168-171.

175. Старченко П. Застосування методу пластинації в стереоморфологічних дослідженнях. Вісник проблем біології і медицини. 2006; Вип 2: 420-422.

176. Bahriy MM, Dibrova VA, editors. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen.* Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328s. [in Ukrainian].

177. Akimov OYe, Kostenko VO. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. *J. Ukr. Biochem.* 2016;88(6):70-5. doi: 10.15407/ubj88.06.070.

178. Акімов ОЄ, Костенко ВО, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Україна, патент на корисну модель UA № 111874. 2016 Лис 25.

179. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000. 280 с.

180. Цебржинский ОИ Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом. Актуальні проблемисучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. 2002; 2(1): 96-97.

181. Кайдашев ПІ, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: «Полімет»; 2003. 320 с.

182. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело.* 1988;1: 16-19

183. Kashdan E, Duncan D, Parnell A, Schattler H. Mathematical methods in systems biology. *Math Biosci Eng.* 2016 Dec 1;13(6):i-ii. doi: 10.3934/mbe.201606i

184. Сілкіна, Ю.В. (2005) Морфогенез просторової організації міокарду в філогенетичному аспекті : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / Ю. В. Сілкіна. - Сімферополь, 2005. - 11 с. Кандидатська thesis, Кримський державний медичний університет ім. С.І.Георгієвського.

185. Марченко, Д.Г. та Твердохліб, І.В. (2024) Внутрішньоклітинні перебудови скоротливого апарату міокарда шлуночків щурів на етапах пренатального онтогенезу після дії алкоголю. *Морфологія = Morphologia*, 18 (1). С. 56-61. ISSN 1997-9665

186. Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of quercetin / T. A. Voroshilova, V. I. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] // *Reports of Morphology*. – 2024. – Vol. 30, №3. – P. 91–98.

187. Babcock MC, DuBose LE, Witten TL, Stauffer BL, Hildreth KL, Schwartz RS, Kohrt WM, Moreau KL. Oxidative Stress and Inflammation Are Associated With Age-Related Endothelial Dysfunction in Men With Low Testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 Jan 18;107(2):e500-e514. doi: 10.1210/clinem/dgab715.

188. Carteri RB, Kocczynski A, Rodolphi MS, Strogulski NR, Wannmacher CMD, Franceschi ID, Hammerschmitt ME, Driemeier D, Portela LV. Anabolic-androgenic steroids impair mitochondrial function and redox status in the heart and liver of mice. *Steroids.* 2021 Aug;172:108861. doi: 10.1016/j.steroids.2021.108861. Epub 2021 May 11. PMID: 33984388.

189. Brüll V, Burak C, Stoffel-Wagner B, Wolfram S, Nickenig G, Müller C, Langguth P, Alteheld B, Fimmers R, Naaf S, Zimmermann BF, Stehle P, Egert S. Effects of a quercetin-rich onion skin extract on 24 h ambulatory blood pressure and endothelial function in overweight-to-obese patients with (pre-)hypertension: a

randomised double-blinded placebo-controlled cross-over trial. *Br J Nutr.* 2015 Oct 28;114(8):1263-77. doi: 10.1017/S0007114515002950. Epub 2015 Sep 2. PMID: 26328470; PMCID: PMC4594049.

190. Kondratiuk VE, Synytsia YP. Effect of quercetin on the echocardiographic parameters of left ventricular diastolic function in patients with gout and essential hypertension. *Wiad Lek.* 2018;71(8):1554-1559. PMID: 30684340.

191. Xu MX, Wang M, Yang WW. Gold-quercetin nanoparticles prevent metabolic endotoxemia-induced kidney injury by regulating TLR4/NF- κ B signaling and Nrf2 pathway in high fat diet fed mice. *Int J Nanomedicine.* 2017 Jan 5;12:327-345. doi: 10.2147/IJN.S116010. Retraction in: *Int J Nanomedicine.* 2019 Apr 26;14:2961-2962. doi: 10.2147/IJN.S212318. PMID: 28115850; PMCID: PMC5221813.

192. Borrás C, Ferrando M, Inglés M, Gambini J, Lopez-Grueso R, Edo R, Mas-Bargues C, Pellicer A, Viña J. Estrogen Replacement Therapy Induces Antioxidant and Longevity-Related Genes in Women after Medically Induced Menopause. *Oxid Med Cell Longev.* 2021 Sep 9;2021:8101615. doi: 10.1155/2021/8101615.

193. Szabó R, Börzsei D, Karácsonyi Z, Gesztelyi R, Nemes K, Berkó AM, Veszeka M, Török S, Kupai K, Varga C, Juhász B, Pósa A. Postconditioning-like effect of exercis: new paradigm in experimental menopause. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019 Feb 1;316(2):H400-H407. doi: 10.1152/ajpheart.00485.2018.

194. Abdelzaher WY, Abdel-Hafez SMN, Rofaeil RR, Ali AHSA, Hegazy A, Bahaa HA. The protective effect of fenofibrate, triptorelin, and their combination against premature ovarian failure in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2021 Jan;394(1):137-149. doi: 10.1007/s00210-020-01975-2.

195. Luo X, Zhang C, Yang Y, Xu X, Cheng X, Wei H, Wang L, Huang F, Shi X, Cabri P. Efficacy and Safety of Triptorelin 3-Month Formulation in Chinese

Children with Central Precocious Puberty: A Phase 3, Open-Label, Single-Arm Study. *Adv Ther.* 2023 Oct;40(10):4574-4588. doi: 10.1007/s12325-023-02617-8.

196. Silverman LA, Geffner ME, Benson M. Long-Acting Gonadotropin-Releasing Hormone Analogues for Central Precocious Puberty, Including 45-Mg 6-Month Subcutaneous Leuprolide Acetate: Use for Treatment and Treatment Monitoring. *Horm Res Paediatr.* 2024 Apr 23:1-8. doi: 10.1159/000539020.

197. Mahmud AA, Anu UH, Foysal KA, Hasan M, Sazib SM, Ragib AA, Taher AB, Hossain MS, Islam MS, Hossain S, Emran TB. Elevated serum malondialdehyde (MDA), insulin, follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and thyroid-stimulating hormone (TSH), and reduced antioxidant vitamins in polycystic ovarian syndrome patients. *Narra J.* 2022 Apr;2(1):e56. doi: 10.52225/narra.v2i1.56.

198. Sun J, Li M, Xiong Y, Zhai L, Zhao J. Oxidative Stress Mediated by N6-Methyladenosine Methylation Contributes to High-Fat Diet Induced Male Reproductive Dysfunction. *Mol Nutr Food Res.* 2023 Apr;67(7):e2101052. doi: 10.1002/mnfr.202101052.

199. Skoracka K, Eder P, Łykowska-Szuber L, Dobrowolska A, Krela-Kaźmierczak I. Diet and Nutritional Factors in Male (In)fertility-Underestimated Factors. *J Clin Med.* 2020 May 9;9(5):1400. doi: 10.3390/jcm9051400.

200. Rehman R, Amjad S, Tariq H, Zahid N, Akhter M, Ashraf M. Oxidative stress and male infertility: a cross sectional study. *J Pak Med Assoc.* 2020 Mar;70(3):461-466. doi: 10.5455/JPMA.12992.

201. do Val Lima PR, Ronconi KS, Morra EA, Rodrigues PL, Ávila RA, Merlo E, Graceli JB, Simões MR, Stefanon I, Ribeiro Júnior RF. Testosterone deficiency impairs cardiac interfibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023 Sep 13;14:1206387. doi: 10.3389/fendo.2023.1206387.

202. Babcock MC, DuBose LE, Witten TL, Stauffer BL, Hildreth KL, Schwartz RS, Kohrt WM, Moreau KL. Oxidative Stress and Inflammation Are Associated With Age-Related Endothelial Dysfunction in Men With Low

Testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 Jan 18;107(2):e500-e514. doi: 10.1210/clinem/dgab715.

203. Muthu SJ, Seppan P. Apoptosis in hippocampal tissue induced by oxidative stress in testosterone deprived male rats. *Aging Male.* 2020 Dec;23(5):1598-1610. doi: 10.1080/13685538.2021.1892625.

204. Boukari O, Khemissi W, Ghodhbane S, Lahbib A, Tebourbi O, Rhouma KB, Sakly M, Hallegue D. Effects of testosterone replacement on lipid profile, hepatotoxicity, oxidative stress, and cognitive performance in castrated wistar rats. *Arch Ital Urol Androl.* 2023 Nov 15;95(4):11593. doi: 10.4081/aiua.2023.11593.

205. Li Y, Zhou Y, Liu D, Wang Z, Qiu J, Zhang J, Chen P, Zeng G, Guo Y, Wang X, DiSanto ME, Zhang X. Glutathione Peroxidase 3 induced mitochondria-mediated apoptosis via AMPK /ERK1/2 pathway and resisted autophagy-related ferroptosis via AMPK/mTOR pathway in hyperplastic prostate. *J Transl Med.* 2023 Aug 26;21(1):575. doi: 10.1186/s12967-023-04432-9.

206. Zhang T, Chu Y, Wang Y, Wang Y, Wang J, Ji X, Zhang G, Shi G, Cui R, Kang Y. Testosterone deficiency worsens mitochondrial dysfunction in APP/PS1 mice. *Front Aging Neurosci.* 2024 May 1;16:1390915. doi: 10.3389/fnagi.2024.1390915.

207. Garza S, Chen L, Galano M, Cheung G, Sottas C, Li L, Li Y, Zirkin BR, Papadopoulos V. Mitochondrial dynamics, Leydig cell function, and age-related testosterone deficiency. *FASEB J.* 2022 Dec;36(12):e22637. doi: 10.1096/fj.202201026R.

208. Ren B, Zhang T, Guo Q, Che J, Kang Y, Cui R, Wang Y, Ji X, Zhang G, Shi G. Nrf2 Deficiency Attenuates Testosterone Efficiency in Ameliorating Mitochondrial Function of the Substantia Nigra in Aged Male Mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2022 Feb 18;2022:3644318. doi: 10.1155/2022/3644318.

209. Wang X, Huang L, Jiang S, Cheng K, Wang D, Luo Q, Wu X, Zhu L. Testosterone attenuates pulmonary epithelial inflammation in male rats of COPD

model through preventing NRF1-derived NF- κ B signaling. *J Mol Cell Biol.* 2021 May 7;13(2):128-140. doi: 10.1093/jmcb/mjaa079.

210. Li Y, Zhang Y, Feng R, Zheng P, Huang H, Zhou S, Ji W, Huang F, Liu H, Zhang G. Cadmium induces testosterone synthesis disorder by testicular cell damage via TLR4/MAPK/NF- κ B signaling pathway leading to reduced sexual behavior in piglets. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2022 Mar 15;233:113345. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113345.

211. Abu-Khudir R, Badr GM, Abd El-Moaty HI, Hamad RS, Al Abdulsalam NK, Abdelrahem ASA, Alqarni S, Alkuwayti MA, Salam SA, Abd El-Kareem HF. Garden Cress Seed Oil Abrogates Testicular Oxidative Injury and NF- κ B-Mediated Inflammation in Diabetic Mice. *Int J Mol Sci.* 2023 Oct 23;24(20):15478. doi: 10.3390/ijms242015478.

212. Lee S, Kim J, Kong H, Kim YS. Ameliorative effects of elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract and extract-derived monosaccharide-amino acid on H₂O₂-induced decrease in testosterone-deficiency syndrome in a TM3 Leydig cell. *PLoS One.* 2024 Apr 25;19(4):e0302403. doi: 10.1371/journal.pone.0302403.

213. Genchi VA, Rossi E, Lauriola C, D'Oria R, Palma G, Borrelli A, Caccioppoli C, Giorgino F, Cignarelli A. Adipose Tissue Dysfunction and Obesity-Related Male Hypogonadism. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 25;23(15):8194. doi: 10.3390/ijms23158194.

214. Abdel-Razik RK, Mosallam EM, Hamed NA, Badawy MEI, Abo-El-Saad MM. Testicular deficiency associated with exposure to cypermethrin, imidacloprid, and chlorpyrifos in adult rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2021 Oct;87:103724. doi: 10.1016/j.etap.2021.103724.

215. Kang J, Yan J, Yan W. Testosterone ameliorated the behavioural deficits of gonadectomised rats and counteracted free radicals in a dosage-dependent manner. *Behav Brain Res.* 2023 Jul 26;450:114501. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114501.

216. Enright S, Werstuck GH. Investigating the Effects of Sex Hormones on Macrophage Polarization. *Int J Mol Sci.* 2024 Jan 12;25(2):951. doi: 10.3390/ijms25020951.
217. Cutolo M, Campitiello R, Gotelli E, Soldano S. The Role of M1/M2 Macrophage Polarization in Rheumatoid Arthritis Synovitis. *Front Immunol.* 2022 May 19;13:867260. doi: 10.3389/fimmu.2022.867260.
218. Li C, Deng C, Wang S, Dong X, Dai B, Guo W, Guo Q, Feng Y, Xu H, Song X, Cao L. A novel role for the ROS-ATM-Chk2 axis mediated metabolic and cell cycle reprogramming in the M1 macrophage polarization. *Redox Biol.* 2024 Apr;70:103059. doi: 10.1016/j.redox.2024.103059.
219. Buelna-Chontal M, García-Niño WR, Silva-Palacios A, Enríquez-Cortina C, Zazueta C. Implications of Oxidative and Nitrosative Post-Translational Modifications in Therapeutic Strategies against Reperfusion Damage. *Antioxidants (Basel).* 2021 May 8;10(5):749. doi: 10.3390/antiox10050749.
220. Bunaim MK, Kamisah Y, Mohd Mustazil MN, Fadhlullah Zuhair JS, Juliana AH, Muhammad N. *Centella asiatica* (L.) Urb. Prevents Hypertension and Protects the Heart in Chronic Nitric Oxide Deficiency Rat Model. *Front Pharmacol.* 2021 Dec 3;12:742562. doi: 10.3389/fphar.2021.742562.
221. Parikh R, Sorek E, Parikh S, Michael K, Bikovski L, Tshori S, Shefer G, Mingelgreen S, Zornitzki T, Knobler H, Chodick G, Mardamshina M, Boonman A, Kronfeld-Schor N, Bar-Joseph H, Ben-Yosef D, Amir H, Pavlovsky M, Matz H, Ben-Dov T, Golan T, Nizri E, Liber D, Liel Y, Brenner R, Gepner Y, Karnieli-Miller O, Hemi R, Shalgi R, Kimchi T, Percik R, Weller A, Levy C. Skin exposure to UVB light induces a skin-brain-gonad axis and sexual behavior. *Cell Rep.* 2021 Aug 24;36(8):109579. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109579.
222. Wang Y, Li Y, Liu C, Wang Y, Li Y. Luteinizing hormone is independently associated with high-sensitive cardiac troponin T elevation in postmenopausal T2DM patients: A cross-sectional study. *J Diabetes.* 2024 Oct;16(10):e70005. doi: 10.1111/1753-0407.70005.

223. Ali BH, Al-Salam S, Balushi KAA, Za'abi MA, Adham SA, Beegam S, Yuvaraju P, Manoj P, Nemmar A. Ameliorative Effect of Gum Acacia on Hookah Smoke-Induced Testicular Impairment in Mice. *Biomolecules*. 2020 May 13;10(5):762. doi: 10.3390/biom10050762.

224. Okesina KB, Odetayo AF, Adeyemi WJ, Ajibare AJ, Okesina AA, Olayaki LA. Naringin from sweet orange peel improves testicular function in high fat diet-induced diabetic rats by modulating xanthine oxidase/uric acid signaling and maintaining redox balance. *Lab Anim Res*. 2024 Feb 18;40(1):5. doi: 10.1186/s42826-024-00188-5.

225. Park MY, Ha SE, Kim HH, Bhosale PB, Abusaliya A, Jeong SH, Park JS, Heo JD, Kim GS. Scutellarein Inhibits LPS-Induced Inflammation through NF- κ B/MAPKs Signaling Pathway in RAW264.7 Cells. *Molecules*. 2022 Jun 12;27(12):3782. doi: 10.3390/molecules27123782.

226. Guo Y, Wen J, He A, Qu C, Peng Y, Luo S, Wang X. iNOS contributes to heart failure with preserved ejection fraction through mitochondrial dysfunction and Akt S-nitrosylation. *J Adv Res*. 2023;43: 175-186. doi: 10.1016/j.jare.2022.03.003.

227. Yang L, Zhou R, Tong Y, Chen P, Shen Y, Miao S, Liu X. Neuroprotection by dihydrotestosterone in LPS-induced neuroinflammation. *Neurobiol Dis*. 2020 Jul;140:104814. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104814.

228. Liu L, Guo H, Song A, Huang J, Zhang Y, Jin S, Li S, Zhang L, Yang C, Yang P. Progranulin inhibits LPS-induced macrophage M1 polarization via NF- κ B and MAPK pathways. *BMC Immunol*. 2020 Jun 5;21(1):32. doi: 10.1186/s12865-020-00355-y.

229. Palmieri EM, Gonzalez-Cotto M, Baseler WA, Davies LC, Ghesquière B, Maio N, Rice CM, Rouault TA, Cassel T, Higashi RM, Lane AN, Fan TW, Wink DA, McVicar DW. Nitric oxide orchestrates metabolic rewiring in M1 macrophages by targeting aconitase 2 and pyruvate dehydrogenase. *Nat Commun*. 2020 Feb 4;11(1):698. doi: 10.1038/s41467-020-14433-7.

230. Zhao X, Wang C, Dai S, Liu Y, Zhang F, Peng C, Li Y. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Jul 16;2022:4591134. doi: 10.1155/2022/4591134.
231. Jiang JJ, Zhang GF, Zheng JY, Sun JH, Ding SB. Targeting Mitochondrial ROS-Mediated Ferroptosis by Quercetin Alleviates High-Fat Diet-Induced Hepatic Lipotoxicity. *Front Pharmacol*. 2022 Apr 12;13:876550. doi: 10.3389/fphar.2022.876550.
232. Baba RA, Mir HA, Mokhdomi TA, Bhat HF, Ahmad A, Khanday FA. Quercetin suppresses ROS production and migration by specifically targeting Rac1 activation in gliomas. *Front Pharmacol*. 2024 Jan 31;15:1318797. doi: 10.3389/fphar.2024.1318797.
233. Han X, Xu T, Fang Q, Zhang H, Yue L, Hu G, Sun L. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy. *Redox Biol*. 2021 Aug;44:102010. doi: 10.1016/j.redox.2021.102010.
234. Albadrani GM, BinMowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin prevents myocardial infarction adverse remodeling in rats by attenuating TGF- β 1/Smad3 signaling: Different mechanisms of action. *Saudi J Biol Sci*. 2021 May;28(5):2772-2782. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.02.007.
235. Hu Q, Qu C, Xiao X, Zhang W, Jiang Y, Wu Z, Song D, Peng X, Ma X, Zhao Y. Flavonoids on diabetic nephropathy: advances and therapeutic opportunities. *Chin Med*. 2021 Aug 7;16(1):74. doi: 10.1186/s13020-021-00485-4.
236. Luo X, Bao X, Weng X, Bai X, Feng Y, Huang J, Liu S, Jia H, Yu B. The protective effect of quercetin on macrophage pyroptosis via TLR2/Myd88/NF- κ B and ROS/AMPK pathway. *Life Sci*. 2022 Feb 15;291:120064. doi: 10.1016/j.lfs.2021.120064.

237. Sul OJ, Ra SW. Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF- κ B in Lung Epithelial Cells. *Molecules*. 2021 Nov 17;26(22):6949. doi: 10.3390/molecules26226949.

238. Cui S, Wu Q, Wang J, Li M, Qian J, Li S. Quercetin inhibits LPS-induced macrophage migration by suppressing the iNOS/FAK/paxillin pathway and modulating the cytoskeleton. *Cell Adh Migr*. 2019 Dec;13(1):1-12. doi: 10.1080/19336918.2018.1486142.

239. Adeoluwa OA, Olayinka JN, Adeoluwa GO, Akinluyi ET, Adeniyi FR, Fafure A, Nebo K, Edem EE, Eduviere AT, Abubakar B. Quercetin abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like symptoms by inhibiting neuroinflammation via microglial NLRP3/NF κ B/iNOS signaling pathway. *Behav Brain Res*. 2023 Jul 26;450:114503. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114503.

240. Tsai CF, Chen GW, Chen YC, Shen CK, Lu DY, Yang LY, Chen JH, Yeh WL. Regulatory Effects of Quercetin on M1/M2 Macrophage Polarization and Oxidative/Antioxidative Balance. *Nutrients*. 2021 Dec 24;14(1):67. doi: 10.3390/nu14010067.

241. Li L, Jiang W, Yu B, Liang H, Mao S, Hu X, Feng Y, Xu J, Chu L. Quercetin improves cerebral ischemia/reperfusion injury by promoting microglia/macrophages M2 polarization via regulating PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2023; 168: 115653. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115653.

242. Wu Y, Wei H, Li P, Zhao H, Li R, Yang F. Quercetin Administration Following Hypoxia-Induced Neonatal Brain Damage Attenuates Later-Life Seizure Susceptibility and Anxiety-Related Behavior: Modulating Inflammatory Response. *Front Pediatr*. 2022 Feb 11;10:791815. doi: 10.3389/fped.2022.791815.

243. Rathi V, Tiwari I, Kulshreshtha R, S K Sagi S. Hypobaric hypoxia induced renal injury in rats: Prophylactic amelioration by quercetin supplementation. *PLoS One*. 2023 Feb 24;18(2):e0279304. doi: 10.1371/journal.pone.0279304.

244. Asp M, Giacomello S, Larsson L, Wu C, Fürth D, Qian X, Wärdell E, Custodio J, Reimegård J, Salmén F, Österholm C, Ståhl PL, Sundström E, Åkesson E, Bergmann O, Bienko M, Månsson-Broberg A, Nilsson M, Sylvén C, Lundeberg J. A Spatiotemporal Organ-Wide Gene Expression and Cell Atlas of the Developing Human Heart. *Cell*. 2019 Dec 12;179(7):1647-1660.e19. doi: 10.1016/j.cell.2019.11.025. PMID: 31835037.

245. Detti L, Saed GM, Jiang ZL, Kruger ML, Diamond MP. The effect of estradiol on the expression of estrogen, progesterone, androgen, and prolactin receptors in human peritoneal fibroblasts. *J Assist Reprod Genet*. 2008 Jun;25(6):245-50. doi: 10.1007/s10815-008-9230-5. Epub 2008 Jun 13. PMID: 18551363; PMCID: PMC2582083.

246. Ghnenis A, Padmanabhan V, Vyas A. Sexual dimorphism in testosterone programming of cardiomyocyte development in sheep. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022 Apr 1;322(4):H607-H621. doi: 10.1152/ajpheart.00691.2021. Epub 2022 Feb 4. PMID: 35119334; PMCID: PMC8957338.

247. Tarsoly E, Bak Z, Gulyás K. Női nemi hormonok hatása a kallusképződésre és a csontvelő regenerációra [The effect of female sex hormones on callus formation and bone marrow regeneration]. *Orv Hetil*. 1968 Dec 1;109(48):2693-5. Hungarian. PMID: 5719441.

248. Ahmed HH, Khalil WK, Shousha WG, El-Sayed ES, Eskander EF, Selim RE. Effect of food restriction on reproductive-related genes and reproductive hormones in adult female rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012 Nov;16(12):1680-90. PMID: 23161040.

249. Naciff JM, Overmann GJ, Torontali SM, Carr GJ, Tiesman JP, Daston GP. Impact of the phytoestrogen content of laboratory animal feed on the gene expression profile of the reproductive system in the immature female rat. *Environ Health Perspect*. 2004 Nov;112(15):1519-26. doi: 10.1289/ehp.6848. PMID: 15531437; PMCID: PMC1247616.

ДОДАТКИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
д. мед. н., професор Валентин ДВОРНИК
« 25 » 12 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації
“Морфофункціональна характеристика структурних компонентів
інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу
гонадотропіну та введенні кверцетину у щурів”.
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний
університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології
Т. А. Воронилова.
- 3) Джерело інформації:

Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YcV, Akinov OYc, Puzyryov GS.
Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats
heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing
hormone synthesis. World of Medicine and Biology. 2022, 79(1): 179-183. Doi:
10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183.

- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології,
цитології та ембріології Полтавського державного медичного
університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та
практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології,
цитології та ембріології Полтавського державного медичного
університету, протокол № 9 від 17. 12. 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології,
цитології та ембріології
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
кандидат медичних наук, доцент

Світлана СТЕЦУК

Підпис засвідчую
Начальник відділу кадрів
Зам. Бойко

«Затверджено»

проректор з науково – педагогічної роботи

Одеського національного

медичного університету,

к.мед.н., доцент

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації "Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіну та введснні кверлетяту у шурів".
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології Т. А. Ворошилова.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Voroshilova, T. A., Shepitko, V. I., Stetsuk, Y. V., Vilkhova, O. V., & Puzyrkov, G. S. (2024). Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of quercetin. *Reports of Morphology*, 30(3), 91-98. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-09)
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедри анатомії людини Одеського національного медичного університету МОЗ України.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.
- 8) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 4 від « 4 » лютого 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри анатомії людини
Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор



Олена АПЛЕТІХІНС

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Львівського національного медичного
 університету імені Данила Галицького
 доктор медичних наук
 професор Вікторія СЕРГІЄНКО

« 06 » _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації “Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстиціо міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів”.
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології Т. А. Воронилідова.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
 Voroshilova, T. A., Shepitko, V. I., Stetsuk, Y. V., Vilkhova, O. V., & Puzutyov, G. S. (2024). Characteristics of the hemomicrocirculatory channel of the ventricular myocardium in triptorelin-induced central deprivation of the synthesis of luteinizing hormone and correction of this condition by the introduction of quercetin. *Reports of Morphology*, 30(3), 91-98. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(3\)-09](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(3)-09)
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, протокол № 9 від 19 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького,
 к.мед.н., доцент



Ілона ЧЕЛПАКОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи та інновацій Національний
медичний університет імені О.О. Богомольця
д.мед.н., професор  Сергій Земсков
«16 травня» 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження матеріалу дисертації “Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів”.
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології
Т. А. Воронилова.
- 3) Джерело інформації:
Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Akinov OYe, Puzyryov GS. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged triptorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. World of Medicine and Biology. 2022; 79(1): 179-183. Doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183.
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, протокол № 4 від 16 травня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця
д.мед.н., професор



Олександр ГРАБОВИЙ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д. мед. н., проф.  Аркадій Шульгай
« 04 » 09 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіну та введенні кверцетину у щурів».
2. **Установа розробника, автор:** Подільський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології Т. А. Ворошилова.
3. **Джерела інформації:**
Voroshilova TA, Shepitko VI, Stetsuk YeV, Akimov OYe, Puzyryov GS. Changes in nitric oxide production and development of oxidative stress in rats heart during prolonged uiprotorelin-induced central deprivation of luteinizing hormone synthesis. World of Medicine and Biology. 2022; 79(1): 179-183. Doi: 10.26724/2079-8334-2022-1-79-179-183
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.
5. **Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** 2024-2025 навчальний рік.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.
8. **Протокол засідання кафедри № 7 від 26 серпня 2024 р.**

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор



Зоя Небесна