

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Вастьянова Руслана Сергійовича, завідувача кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В.Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України на дисертаційну роботу Ворошилової Тетяни Анатоліївни за темою «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», подану на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина створену для разового захисту спеціалізовану вчену раду при Полтавському державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України

Актуальність обраної теми.

Дослідження стану серцево-судинної системи, зокрема міокарда шлуночків, при патології, ініційованої дією таргетної терапії раку предміхурової залози, є досить актуальними в зв'язку з поширенням останньої. Як відомо, суттєвий вплив цієї терапії спрямований на інтерстицій міокарду шлуночків, який представлений пухкою волокнистою сполучною тканиною.

Нормальне функціонування кардіоміоцитів, забезпечується сполучно-тканинним і клітинним компонентами, а також, гемомікроциркуляторне русло, до складу якого входять артеріоли, капіляри і венули. Судини гемомікроциркуляторного русла проникають у глиб міокарда і забезпечують кровопостачання кожної клітини цієї ділянки серцевого м'яза.

При андрогендеприваційній терапії, згідно рекомендацій Європейської асоціації урологів, широко використовується речовина трипторелін, що викликає пригнічення вироблення тестостерона. Тестостерон, в свою чергу, відіграє важливу роль у функціонуванні серцево-судинної системи, а при його дефіциті підвищується ризик серцево-судинної смертності. В науковій літературі є дані, що замісна терапія тестостероном може бути використана

як ефективний засіб для корекції патології. Також в науковій літературі є дані про те, що тестостерон стимулює 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). Високі концентрації лютеїнізуючого гормону мають здатність інгібувати синтез оксиду азоту від NO-синтаз, тому зниження його концентрації під впливом триптореліну має підвищувати його продукцію.

Фармакологічний препарат, основною діючою речовиною якого є поліфенол кверцетин, відомий в якості коректора функціональних порушень в інтерстиції міокарда шлуночків. Йому притаманні потужні антиоксидантні властивості, він гальмує продукцію активних форм кисню, регулює редокс-чутливі транскрипційні фактори, знижує активність індукцибельної ізоформи NO-синтази. Відома також його здатність регулювати поляризацію макрофагів тканин, спрямовуючи її у бік переважання M2-фенотипу.

Таким чином, дослідження порушень гемомікроциркуляторного русла дає можливість підвищити ефективність лікування серцево-судинних захворювань. Застосування кверцетину ефективно нейтралізує трипторелін-індукований оксидативний стрес у серці щурів, знижує продукцію активних форм кисню, має прямий антиоксидантний вплив, та вплив на функціонування циклу оксиду азоту в серці щурів.

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

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами

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

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

Завдання (п'ять) дослідження повністю відповідають меті дослідження. Дослідження були проведені на 60 дорослих самцях білих щурів, що були розподілені на 3 групи: I група – контроль, яким вводили фізіологічний розчин; II група – тварини, яким вводився розчин триптореліну; III група – тварини, яким на тлі введення триптореліну, вводився кверцетин. Для виконання поставленої мети у роботі були застосовані сучасні та відповідні задачам методи дослідження. На основі проведеного дослідження дисертант зробив обґрунтовані й повні висновки, що логічно впливають зі змісту роботи та відображають основні положення дисертації.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше показано, що введення триптореліну призводило до виникнення асептичного запалення, розширення прошарків ПВСТ (ендомізію та перимізію), активації макрофагів та тканинних базофілів. В ІМШ морфологічні зміни найбільш проявлялися на 3 і 12 місяці спостерігалися дослідження.

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

Отримані результати можуть слугувати теоретичним підґрунтям для розробки методів корекції порушень ГМЦР ІМШ при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: «гіпоталамус-гіпофіз-сім'яник-серце».

В роботі 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) супроводжувалися зниженням продукції оксиду азоту в серці щурів, що загрожувало розвитком ішемічних ушкоджень міокарду. З 6 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном спостерігалася 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.

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 гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях

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. 38 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.

Наукові результати та основні положення дисертаційного дослідження повністю викладені у 8 наукових роботах, з них: 4 статті у фахових виданнях України (3 входять до наукометричної бази Scopus та Web of Science) та 4 тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура, стиль та обсяг дисертації

Дисертація викладена на 188 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 249

найменувань, розміщених на 36 сторінках. Робота проілюстрована 41 рисунками, 64 мікрофотографіями та 5 таблицями.

Оцінка змісту дисертації:

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

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

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

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

В **огляді літератури** приведено значну кількість наукових літературних даних 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; перикисного окислення ліпідів, цикл оксиду азоту. Не достатньо представлено даних про поляризацію M1 і M2 інтерстицію міокарда шлуночків, їх експресію з CD68 та CD163, а також активність каспази-3, що приймає участь в процесах апоптозу.

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

Результати власних досліджень викладені автором у наступних чотирьох розділах.

У **третьому розділі** показано, що інтерстицій міокарда шлуночків складається з трьох шарів: ендомізія, перимізія та епімізія. В свою чергу кожний шар представлений ПВСТ, яка має сполучно-тканинний і клітинний компоненти. Сполучно-тканинний компонент представлений колагеновими і еластичними волокнами, які формують футляр для кардіоміоцита, що забезпечує скоротливу функцію останнього. Клітинний компонент представлений резидентними (фібробластами, міофібробластами, ліпоцитами) та мігруючими (макрофагами, тканинними базофілами,) клітинами. ГМЦР ІМШ представлений артеріолярною (резистивною), капілярною (обмінною) та веноулярною (ємнісною) ланками. Артеріолярна та

венулярна ланки знаходились в перимізії ІМШ, в той час, як капілярна ланка знаходилась в ендомізії.

Введення триптореліну та триптореліну з кверцетином призводило до розширення прошарків ПВСТ (ендомізій та перимізій), активації макрофагів та тканинних базофілів по типу асептичного запалення в ІМШ з явними проявами морфологічних ознак на 3-12 місяці дослідження. Реакція ГМЦР ІМШ на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшення кровонаповнення максимум якого становить на 6 місяць експерименту в обох експериментальних групах, але без порушення відтоку в групі з додаванням кверцитину. Отримані 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.

Четвертий розділ. Проведене дослідження показало, 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.

Водорозчинна форма кверцитину 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 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.

У п'ятому розділі автор показала, що ведення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. Додавання кверцетину порушує ландшафт антигенпрезентуючих клітин, що характеризуються змінами субпопуляцій макрофагів M1 і M2. Їх кількісне співвідношенням свідчить про значення не тільки для розуміння функціонування цих клітин, а є основою для розробки ефективних методів лікування на основі моделювання поляризаційного їх 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 апаптозу в умовах гормональної дисфункції, а саме пригніченню синтезу тестостерону.

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

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

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності в дисертаційній роботі. У дисертаційній роботі Ворошилової Тетяни Анатоліївни не встановлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертантом представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел.

Зауваження та запитання щодо змісту та оформлення дисертаційної роботи:

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

1. Яка фізіологічна роль тестостерону у міокарді?
2. Чому препаратом вибору Вашого дослідження був «Кверцетин»?
3. Які Ви знаєте механізми реалізації його кардіопротекторної активності?

Наведені вище запитання не є принциповими та не зменшують науково-практичну значимість роботи.

Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи

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

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

Дисертаційна робота Ворошилової Тетяни Анатоліївни «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», за актуальністю обраної теми, методичним рівнем виконання, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів для медицини повністю відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, актуальним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом № 40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. (редакція від 12.07.2019р.) заслуговує на присудження ступеня доктор філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України,
Заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор

Руслан ВАСТЬЯНОВ