

ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО РЕЦЕНЗЕНТА

**завідувача кафедри патофізіології Полтавського державного
медичного університету доктора медичних наук, професора Костенка
Віталія Олександровича на дисертаційну роботу Ворошилової Тетяни
Анатоліївни за темою «Морфофункціональна характеристика
структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному
блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», на
здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона
здоров'я за спеціальністю 222 Медицина**

Актуальність теми дисертації.

За даними Міністерства охорони здоров'я України 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, щорегенерація тканин серця дорослої людини після ушкодження відбувається погано. Імунна система реалізує захисну реакцію у вигляді запалення, а також відіграє важливу роль у усуненні місцевих пошкоджень, спричинених запальними процесами у серці. Однієї із причин серцевої недостатності є інфаркт міокарда, причиною якого є безліч чинників. У результаті пошкодження значної частини міокарда відбувається сильна запальна реакція, яка індукує реактивний фіброз і ремоделювання стінки шлуночків поза ділянкою ураження.

Досить тривалий час вважали, що андрогени виявляють шкідливий 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. 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. 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 серцево-судинній системі. 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 в *in vitro*, таким чином потенційно відіграючи важливу роль у пригніченні фіброзу серця.

Пов'язують реактивний фіброз із гіпертрофією кардіоміоцитів для компенсації підвищеного навантаження за рахунок збільшення розмірів. Також відбувається надмірна секреція профібротичних факторів, призводить до витоку в навколишні ділянки міокарда. У результаті цього починається посилена проліферація місцевих фібробластів і відкладення колагену. Неповна і пізня реалізація запальної стадії інфаркту міокарда також може призвести до пізньої фази ремоделювання і серцевої недостатності.

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. 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. Також присутня невелика кількість моноцитів, дендритних клітин, тучних клітин, регуляторних Т- і В-лімфоцитів. І саме присутність цих клітин забезпечує негайну імунну відповідь. Загально відомо, що головними функціями макрофагу є: розпізнавання, фагоцитування та знищення апоптозних клітин і різних патогенних чинників, а також ініціювання імунної відповіді. 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, потрапляючи до різних тканин та диференціюються у тканинні макрофаги. 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. 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 збільшується за рахунок інфільтрації циркулюючих моноцитів під час пошкодження.

Активация резидентных макрофагов відбувається шляхом розпізнавання молекулярних патернів, які пов'язані з чинником, що викликав пошкодження патогеном. 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).

Зважаючи на вищевикладене, проведене наукове дослідження з вивчення морфофункціональної характеристики структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів при введенні триптореліну є актуальним і таким, що повністю відповідає запитам теоретичної та практичної медицини.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.

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 та достовірності положень, висновків і рекомендацій у дисертації.

Дисертаційне дослідження Ворршилової Т.А. виконане на високому методичному рівні. Автором використовувались інформативні сучасні методи досліджень:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах;
- загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації інтерстицію міокарда шлуночків, а саме ГМЦР та сполучно-тканинного і клітинного компонентів;
- біохімічні методи – для визначення впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном;

- імуногістохімічні – показати зміни в поляризації M1/M2-макрофагів ІМШ при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів на тлі введення кверцетину;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

Мета і завдання, які поставлені для її досягнення, сформовані чітко і в повній мірі реалізовані у викладених результатах власних досліджень і висновках. Дисертантка послідовно та логічно виклала встановлені факти, підтвердив їх ілюстративним (мікрофотографії гістологічних препаратів, діаграмами) та достатнім цифровим матеріалом (таблиці із статистично опрацьованими цифровими даними), що в сукупності є доказово-документальним підтвердженням проведених досліджень, які підкреслюють високий ступінь обґрунтованості дисертаційних положень, полегшують сприйняття матеріалу, формують уяву що до морфофункціональної характеристики структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів на різних термінах експерименту.

Достовірність отриманих результатів досягнута шляхом використання достатньої кількості досліджуваного матеріалу: 60 статевозрілих щурів самців масою 140 –експериментальні групи: контрольну (10 тварин) та дві експериментальні групи (по 25 тварин в кожній групі), які ділилися на підгрупи по термінам виведення з дослідження на 1-й, 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяць. Робота виконана у відповідності до положення про етичне ставлення до хребетних тварин та дотриманням норм біоетики, про що свідчить витяг з протоколу засідання комісії з питань біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії № 179 від 28.01.2020р. Вміст наукової роботи з її обґрунтуванням та кількістю ілюстративного матеріалу, є достатніми для узагальнень і висновків, що містяться в рукописі дисертації.

Висновки логічно базуються на основних положеннях роботи та

відповідають поставленим завданням дисертаційного дослідження. Таким чином, є всі підстави стверджувати, що автором досягнуто очевидного прогресу у вивченні особливостей морфофункціональної характеристики структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіну та введенні кверцетину у щурів на різних термінах експерименту.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

Автором вперше показано, що введення триптореліну призводило до колагенолізу, 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 доказано, що введення триптореліну викликає кількісні та якісні зміни в популяції макрофагів інтерстиційного простору серця. 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.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані Ворошиловою Т.А. нові наукові дані щодо морфофункціональної характеристики структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів сприятимуть подальшому вивченню впливу препаратів групи андрогендеприваційної терапії на різні органи та системи. Введення триптореліну призводило до виникнення зміни сполучнотканинних компонентів, 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. Основні положення та висновки дисертаційного дослідження впроваджені у навчальний процес.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Основні положення дисертаційної роботи здобувач достатньо висвітлив у 7 роботах, з них 4 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 3 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Оцінка змісту та оформлення дисертації, аналіз її розділів.

Рукопис дисертації Ворошилової Т.А. викладено українською мовою на 192 сторінках комп'ютерного тексту, оформлений згідно вимог до присудження ступеня доктора філософії «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 та включає наступні складові: анотації, список публікацій автора, зміст, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, розділ з описом матеріалу та методів дослідження, три розділи власних досліджень, розділ з аналізу і узагальнення отриманих результатів, висновки і практичні рекомендації, список використаних джерел літератури та додатки.

В **анотаціях**, поданих українською та англійською мовами, коротко відображені основні положення дисертаційної роботи.

У **«Вступі»** здобувач обґрунтував актуальність проведеного дослідження, сформулював мету та завдання дослідження; визначив об'єкт та предмет дослідження; аргументовано зазначив обрані методи дослідження; показав наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, зазначивши свій особистий внесок; описав географію наукових форумів з апробацією результатів виконаної наукової роботи. Звертає на себе увагу чисельність публікацій автора за темою дисертації у фахових наукових виданнях та наукових конгресах і конференціях та широке впровадження результатів дослідження.

У **Розділі 1** здобувач послідовно і аргументовано приводить відомі погляди науковців щодо загальної характеристики сполучнотканинного простору міокарда в нормі та при серцевій недостатності (підрозділ 1.1); дані щодо впливу пригнічення синтезу гонадотропін-рилізінг гормону на функціонування та структурну організацію міокарда шлуночків (підрозділ 1.2); ефекту використання кверцетину при ряді патологічних станів (підрозділ 1.3).

В огляді літератури автором подано різні точки зору, що представлені в науковій літературі та обґрунтовано мету дослідження, а також окреслено дискусійні питання, або такі, що не знайшли достатнього висвітлення в літературі. У цілому, розділ свідчить про високу обізнаність автора щодо даної проблеми та вміння доступно узагальнити й подати матеріал. З огляду літератури впливають невивчені питання, які дисертант виніс як завдання свого дослідження та які знайшли відображення в його публікаціях.

З перших абзаців **Розділу 2** «Матеріали та методи дослідження» автор акцентує увагу на тому, що дисертаційна дослідження проведено з дотриманням норм поводження з лабораторними тваринами за спеціально розробленим комплексним алгоритмом із застосуванням традиційних і сучасних методів і методик. У п'яти підрозділах Розділу 2 здобувачем подано: загальну характеристику дослідження та описано методи дослідження. Всі методи внесені до Розділу 2 рукопису дисертації, вдало поєднані між собою, чітко та лаконічно прописані, і відповідають поставленим меті й завданням роботи. Слід підкреслити творчий підхід дисертанта щодо вирішення поставлених завдань.

Розділи 3-5 містять послідовне і логічне викладення власних результатів дослідження дисертанта відповідно поставлених мети та завдань дослідження.

Розділ 3 рукопису дисертації розкриває результати власних досліджень, щодо морфологічних та структурних особливостей інтерстицію міокарда шлуночків (ІМШ) у контрольній групі щурів. Показана реакція структурних компонентів ІМШ при введенні триптореліну та триптореліну з кверцетином.

Розділ 4 присвячений впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Показаний вплив водорозчинної форми кверцетину на продукцію супероксидного аніон-радикалу в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Дана характеристика впливу водорозчинної форми кверцетину на активність антиоксидантних ферментів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу

лютеїнізуючого гормону триптореліном, а також показаний вплив водорозчинної форми кверцетину на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Досліджена дія водорозчинної форми кверцетину на активність ферментів циклу оксиду азоту в серці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

У **Розділі 5** показана реакція довготривалого блокування релізінггормону на зміни в поляризації макрофагів серця на тлі введення кверцетину у щурів. Дана характеристика кількісного показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну, та показника клітин моноцитарно-макрофагального ряду та фібробластів ІМШ, які зв'язуються з рецепторами CD 68+ та CD 163+ при введенні триптореліну і кверцетину. Показника активності каспаза-3 в тканинах ІМШ при довготривалому блокуванні релізінг-гормону у щурів самців та введенні кверцетину.

У **Розділі 6** «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.

На підставі отриманих отриманих даних дисертантом сформульовано **7 висновків**, які завершують наукове дослідження, науково обґрунтовані, логічно випливають з отриманих результатів, відповідають меті та завданням дослідження.

Бібліографічний опис використаних джерел подано здобувачем у порядку посилань по ходу тексту рукопису. Із контент-аналізу джерельної бази рецензованої роботи випливає, що вона містить достатній спектр як сучасних, так і класичних (фундаментальних) джерел наукової літератури. Бібліографічний опис використаних джерел оформлений з урахуванням Національного стандарту України ДСТУ 8302:2015«Інформація та

документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання» за Ванкуверським стилем, віднесеним до рекомендованого переліку стилів з розміщенням у структурі рукопису дисертації відповідно вимог щодо оформлення дисертацій, відповідно Постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії».

Завершує рукопис **додаток** до рукопису дисертації, які теж оформлені згідно вимог щодо оформлення дисертацій, відповідно Постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії».

Дотримання принципів академічної доброчесності. Полтавський державний медичний університет має внутрішню систему перевірки академічних тестів на наявність запозичень. Академічні тексти перевіряються на основі Положення «Про порядок перевірки в Полтавському державному медичному університеті текстових документів –магістерських, докторських дисертаційних робіт, звітів за науково-дослідними роботами, наукових публікацій, навчальної літератури, навчально-методичних видань та засобів навчання на наявність плагіату», що базується на чинному законодавстві України. Публікації та дисертаційна робота Ворошилової Тетяни Анатоліївни «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів не містить виявлених текстових та інших запозичень, а виявлені збіги є загальноприйнятими фразами, назвами вузів. Виходячи із вищевикладеного дисертант науковцем високого рівня, який у своїй науковій роботі дотримується основних принципів академічної доброчесності.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. Принципових недоліків у роботі мною не виявлено:

У плані дискусії вважаю за доцільне поставити наступні **питання**:

1. Чому серед ферментів циклу NO Ви зосередили свою увагу на NO-синтезах та аргіназах ?
2. Які механізми на вашу думку могли призвести до змін у міокарді?

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації у практиці. На мою думку, результати дисертації щодо морфофункціональної характеристики структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів можуть бути використані в якості наукового та методологічного підґрунтя для подальшого вивчення впливу триптореліну на організм лабораторних тварин. Отримані наукові дані доцільно використовувати в навчальному та науково-дослідному процесах кафедр морфологічних, гістологічного профілю для поглибленого розуміння механізмів розвитку патологічних змін під дією екзогенних та ендогенних чинників.

Вважаю, що дисертаційна робота «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів» подана на здобуття ступеня доктора філософії, є завершеною науковою працею, що виконана дисертантом особисто, має значну наукову новизну, теоретичне та практичне значення. Аспірант вдало досягнула мети дослідження, виконала всі задачі дослідження та зробила відповідні висновки. Загальна оцінка дисертації – позитивна. Основні наукові результати дисертаційного дослідження висвітлені в достатній кількості наукових публікацій, які повністю розкривають зміст дисертації. Дисертаційна робота Ворошилової Тетяни Анатоліївни «Морфофункціональна характеристика структурних компонентів інтерстицію міокарда при центральному блокуванні синтезу гонадотропіна та введенні кверцетину у щурів», за актуальністю обраної теми, методичним рівнем виконання, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів для медицини

повністю відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, актуальним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом № 40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. (редакція від 12.07.2019р.) може бути представлена до офіційного захисту в разовій спеціалізованій раді на присудження ступеня доктор філософії за спеціальністю 222 Медицина.

ОФІЦІЙНИЙ РЕЦЕНЗЕНТ:

завідувач кафедри патофізіології

Полтавського державного медичного університету

МОЗ України,

д.мед.н., професор

Віталій КОСТЕНКО