

## ВІДГУК

офіційного опонента завідувача кафедри внутрішньої медицини № 3 та ендокринології Харківського національного медичного університету МОЗ України, Заслуженого діяча науки і техніки України, доктора медичних наук, професора **Журавльової Лариси Володимирівни** на дисертаційну роботу **Боряк Христини Радиславівни «Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла»**, що подана до спеціалізованої вченої ради ДФ 44.601.026 Полтавського державного медичного університету на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина

**Актуальність теми дисертації.** Підвищення маси тіла та ожиріння є одними з найбільш поширених станів, які становлять загрозу здоров'ю населення, призводячи до хронічних захворювань і смертності у всьому світі. На теперішній час відомо, що ожиріння, залежно від ступеня, тривалості та розподілу жирової тканини, може поступово викликати та/або посилювати широкий спектр супутніх захворювань, таких, як цукровий діабет 2 типу, гіпертонічну хворобу, дисліпідемію, серцево-судинні захворювання, неалкогольну жирову хворобу печінки, порушення дихання, психічні захворювання та навіть збільшувати ризик деяких видів раку. Жирова тканина більше не вважається інертною, вона бере участь у регуляції фізіологічних та патологічних процесів, включаючи імунітет та запалення.

Було визначено, що більша частина прозапальних факторів експресується макрофагами, що інфільтрують жирову тканину, кількість яких при ожирінні значно підвищується. Макрофаги є пластичними клітинами, які реагують на мікросередовище, варіюють від прозапальних M1 до протизапальних M2 макрофагів. При підвищенні маси тіла та ожирінні формується дисбаланс у співвідношенні M1/M2 макрофагів в напрямку зростання прозапальних макрофагів M1.

Ключовими факторами транскрипції, які опосередковують поляризацію M1/M2 макрофагів були визначені члени сімейства білків STATs. STAT1 асоціюється з поляризацією макрофагів за фенотипом M1, тоді як STAT6 опосередковує поляризацію за фенотипом M2. Невизначеним залишається співвідношення STAT1 та STAT6 в процесі поляризації моноцитів/макрофагів за фенотипами M1/M2 при поступовому підвищенні маси тіла за умов споживання надлишку нутрієнтів. Достеменно невідомі особливості активації STAT1 і STAT6 за умов метаболічних змін та їх вплив на поляризаційний профіль макрофагів, що потребує додаткових досліджень.

Таким чином, ролі STAT1 і STAT6 в континіумі запального процесу відрізняються, сигнальні шляхи даних факторів транскрипції є ключовими при зміні поляризаційного фенотипу макрофагів за фізіологічних умов і за умов підвищення маси тіла та в подальшому можуть використовуватись в діагностичних та лікувальних цілях. Саме тому актуальність дисертаційної роботи Боряк Христини Радиславівни «Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла» не викликає сумнівів та цілком відповідає потребам сучасної медицини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження виконане в рамках науково-дослідних робіт Полтавського державного медичного університету «Комплексне дослідження патогенетичної ролі субпопуляцій M1 та M2 макрофагів в розвитку хронічного обструктивного захворювання легень для розробки та обґрунтування персоналізованої терапії з врахуванням маси тіла», № ДР 0117U005252 та «Вивчення патогенетичної ролі циркадіанного молекулярного годинника в розвитку метаболічних захворювань і системного запалення та розробка методики лікування, що скерована на ці процеси», № ДР 0120U101166.

## **Достовірність і обґрунтованість наукових положень дисертації.**

Основні положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційної роботи «Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла» Боряк Христини Радиславівни викладені на підставі результатів власного дослідження, до якого були залучені 84 особи чоловічої та жіночої статі віком від 18 до 25 років. За індексом маси тіла групи були поділені на контрольну із 44 осіб з нормальною масою тіла, а саме по 22 особи чоловічої та жіночої статі, та групу з підвищеною масою тіла із 40 осіб, по 20 осіб чоловічої та жіночої статі. Відповідно до дизайну скринінг осіб проводився на основі карт спостережень.

Використаний в роботі методичний підхід є грамотним та оптимальним для вирішення поставленої мети і завдань дослідження. Усім респондентам були проведені антропометричні та функціональні дослідження, анкетування, ретельно вивчені особливості харчової поведінки та енергетична цінність харчового раціону. Використано сучасні високоінформативні методи лабораторної діагностики - визначення рівня експресії генів stat1 та stat6 методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі «реального часу», дослідження концентрації інтерлейкіна-6, трансформуючого фактору росту  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ) та високочутливого C-реактивного білка у супернатанті клітин та сироватці крові методом імуноферментного аналізу.

Результати власних досліджень обґрунтовані та достовірні, що підтверджується математично-статистичним аналізом, та забезпечують представлений роботі високий рівень основних положень і висновків. Робота виконана відповідно до морально-етичних норм та основних положень біоетики згідно сучасних міжнародних і вітчизняних документів з біомедичних досліджень.

**Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.** Проведені дослідження вперше визначили фізіологічну роль балансу ядерних факторів

транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів у осіб молодого віку при підвищенні маси тіла. Визначений рівень експресії ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові, які знаходяться на різних етапах активації в залежності від маси тіла респондента.

За результатами роботи вперше виявлено, що у осіб з нормальною та підвищеною масою тіла достовірно підвищення рівня експресії генів stat1 та stat6 відбувається за умов стимуляції моноцитів периферичної крові ліполісахаридом E.coli (LPS) і  $\gamma$ -інтерфероном ( $\gamma$ IFN) та інтерлейкіном (IL)-4. Вперше визначено, що найбільший приріст рівня експресії обох досліджуваних генів відбувається за умов стимуляції моноцитів IL-4.

У даній роботі вперше виявлено достовірно вищий рівень експресії гена stat1 у макрофагах, стимульованих IL-4 на 7 добу інкубації у осіб з підвищеною масою тіла порівняно з особами з нормальною масою. Також визначено, що експресія гена stat6 на 3 та 7 добу інкубації достовірно вище у макрофагах, стимульованих IL-4 у порівнянні з клітинами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN в усіх досліджуваних групах.

Вперше розраховане співвідношення експресії генів stat1/stat6 в динаміці інкубації, що є показником фізіологічної ролі балансу STAT1 та STAT6 в поляризації макрофагів у осіб з нормальною і підвищеною масою тіла. Вперше виявлено зниження показника співвідношення експресії генів stat1/stat6 в динаміці інкубації у осіб з нормальною масою тіла. Показано, що на 3 добу інкубації співвідношення stat1/stat6 достовірно нижче на 23,91% у макрофагах, стимульованих LPS та  $\gamma$ IFN у порівнянні з нестимульованими клітинами, на 7 добу інкубації достовірно нижче на 43,34% у макрофагах, стимульованих IL-4 у порівнянні з нестимульованими клітинами та на 30,45% у порівнянні з макрофагами, стимульованими LPS та  $\gamma$ IFN.

Автором вперше показано, що продукція IL-6 макрофагами переважає за умов стимуляції LPS та  $\gamma$ IFN у клітинах осіб обох груп, але є достовірно вищою у осіб з підвищеною масою тіла. також вперше досліджено рівень

продукції TGF $\beta$ 1 макрофагами у супернатанті клітин.

Визначені додаткові дані щодо домінування симпатичних впливів вегетативної нервової системи у осіб з підвищеною масою тіла при дозованому фізичному навантаженні. Поглиблено розуміння негативного впливу підвищеної маси тіла на якість життя у молодих осіб, що підтверджено достовірним зниженням усіх показників шкали фізичного компоненту здоров'я у чоловіків та психічного компоненту – у жінок.

Отримані додаткові дані стосовно формування енергетичного дисбалансу з достовірним підвищенням енергетичної цінності харчового раціону у порівнянні з рекомендованим добовим споживанням енергії у осіб з підвищеною масою тіла, який характеризується переважним споживанням жирів особами чоловічої статі та жирів і вуглеводів особами жіночої статі з підвищеною масою тіла.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати проведеного дослідження розширюють розуміння фізіологічної ролі балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла, доповнюють знання стосовно патогенезу розвитку низькоінтенсивного системного запалення при підвищенні маси тіла та ожирінні.

Дослідження даних показників є можливим раннім діагностичним критерієм виявлення процесів прекодиціювання моноцитів з формуванням прозапального фенотипу. Подальше дослідження експресії і балансу факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів надасть можливість розробки ефективних заходів, спрямованих на профілактику захворювань, пов'язаних з підвищенням маси тіла і ожирінням.

Результати роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрах фізіології та патофізіології Полтавського державного медичного університету, кафедрі нормальної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, кафедрі фізіології

Дніпропетровського державного медичного університету, кафедрі фізіології ім. Я.Д. Кіршенבלата Буковинського державного медичного університету, кафедрі фізіології з основами біоетики та біобезпеки Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського.

**Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.** Основні результати та наукові положення дисертації повністю відображені у 13 наукових працях, а саме у 3 статтях у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 статті у виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази Scopus та знаходиться на території Євросоюзу, 1 статті в українському виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази Web of Science, 8 тезах у матеріалах наукових конференцій та з'їздів.

**Оцінка змісту та оформлення дисертації, аналіз її розділів.** Дисертація викладена українською мовою на 195 сторінках комп'ютерного набору, містить 40 таблиць та 8 рисунків. Складається з анотації українською та англійською мовами, переліку наукових праць здобувача, опублікованих за темою дисертації, вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів дослідження, двох розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 246 джерел – 47 кирилицею та 199 латиницею, 2 додатків.

У Вступі дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність досліджуваної теми, визначені мета та завдання. Надані відомості про наукову новизну, практичне значення роботи, дані про публікації результатів у наукових працях та апробацію матеріалів дисертації.

Перший розділ «Фізіологічна роль ядерних факторів транскрипції stat1 та stat6 в процесі поляризації макрофагів (огляд літератури)» становить близько 10% від загального тексту дисертації та складається з 3-х підрозділів.

Розділ висвітлює дані досліджень механізмів, що лежать в основі поляризації макрофагів за фенотипами M1 або M2, надає нові уявлення про особливості процесу поляризації за фізіологічних та патологічних умов, відомості про основні фактори транскрипції, які регулюють процес поляризації, зокрема, фізіологічну роль ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов нормального та підвищеного надходження нутрієнтів.

Огляд літератури ретельно систематизований, базується на сучасних публікаціях і підтверджує достатню ерудицію здобувачки та її глибоке розуміння проблеми та необхідність її вирішення.

У другому розділі «Матеріали та методи досліджень», який становить близько 8% від загальної кількості сторінок, представлено опис принципів формування груп дослідження та критеріїв включення респондентів до них, дизайн дослідження та етапи його виконання. Докладно висвітлені методи дослідження: антропометричні, функціональні, опитування для визначення якості життя, харчової поведінки, енергетичної цінності харчового раціону та її відповідності потребам в енергії, експериментальні, лабораторні та статистичні. Дані методи обґрунтовані та сприяють вирішенню поставлених завдань.

У третьому розділі, який становить 22% від загальної кількості сторінок, дисертант висвітлює результати аналізу антропометричних даних, функціональних показників серцево-судинної системи та вегетативної регуляції, якості життя, харчової поведінки осіб дослідних груп та відповідність калорійності їх добового раціону потребам в енергії. Розділ завершується підсумовуючим висновком, який узагальнює результати проведених досліджень.

У четвертому розділі, який становить 11% від загальної кількості сторінок, дисертант представляє аналіз показників рівня експресії ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферичної крові в дослідях *in vitro* у осіб з нормальною і підвищеною

масою тіла. Висвітлює результати концентрації рівня інтерлейкіна-6, трансформуючого фактора росту  $\beta 1$  і високочутливого С-реактивного білка у супернатанті клітин і сироватці крові. Також дисертант наводить кореляційні взаємозв'язки між рівнем експресії ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в моноцитах/макрофагах периферійної крові із рівнем про- та протизапальних цитокінів у сіб з нормальною і підвищеною масою тіла. Розділ також завершується висновками, які узагальнюють результати проведених досліджень.

У п'ятому розділі, який становить 13% від загальної кількості сторінок, автором проведена систематизація отриманих результатів дослідження, співставлення особистих досліджень з аналогічними дослідженнями вітчизняних та закордонних авторів. Автор науково обґрунтувала індивідуальне бачення питань, які стосуються проблеми дослідження. Послідовно висвітлено результати, наведено узагальнений підсумок клінічних і лабораторних методів дослідження, основні наукові положення.

Висновки повністю відповідають меті і поставленим завданням, відображають основний зміст дисертаційної роботи, достовірність якої не викликає сумнівів.

**Дотримання принципів академічної доброчесності.** Під час вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій не було виявлено ознак плагіату, фальсифікацій чи інших порушень академічної доброчесності.

**Недоліки дисертації щодо змісту і оформлення.** Дисертаційна робота Боряк Христини Радиславівни є завершеною науковою працею, в якій отримані новітні науково обґрунтовані результати.

Принципових зауважень щодо оформлення дисертації, викладення результатів дослідження та їх аналізу немає. Автором при написанні дисертаційної роботи була використана достатньо велика кількість джерел літератури, серед яких зустрічаються поодинокі джерела, опубліковані



більше 10 років тому. Значна кількість таблиць у розділі 3 дещо ускладнює сприйняття інформації, але не відображається на якості роботи. За текстом відмічаються окремі стилістичні та граматичні помилки. Але вказані недоліки не знижують цінність роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку.

#### **Питання, які виникли під час ознайомлення з роботою:**

1. Поясніть, чому дослідження показників рівня експресії генів stat1 та stat6 Ви проводили на 3 та 7 добу інкубації, а визначення концентрації цитокінів у супернатанті клітин на 7 добу?
2. Яким чином проводився контроль процесу поляризації макрофагів при стимуляції клітин за M1 та M2 фенотипами в досліджах *in vitro*?
3. За отриманими Вами даними найбільший приріст рівня експресії обох досліджуваних генів відбувається за умов стимуляції моноцитів IL-4. Чому саме, як Ви вважаєте?

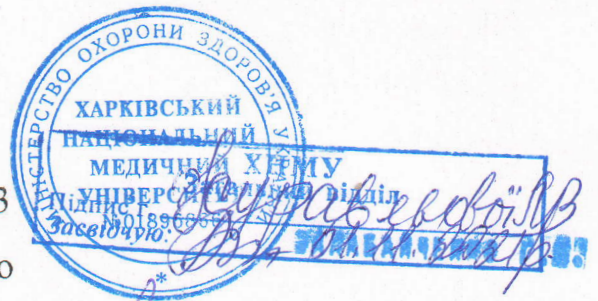
#### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам**

Дисертаційна робота Боряк Христини Радиславівни «Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла», яка представлена до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії, є самостійною завершеною науковою працею, що виконана здобувачем особисто, має наукову новизну, теоретичне та практичне значення. У роботі представлено нове вирішення актуального наукового завдання медицини, а саме визначення фізіологічної ролі балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла у молодих осіб.

За актуальністю, адекватністю задач дослідження, використаним методичним підходом, обсягом проведених досліджень, новизною отриманих

результатів, ступенем обґрунтованості та достовірності висновків дисертаційна робота Боряк Х.Р. «Фізіологічна роль балансу ядерних факторів транскрипції STAT1 та STAT6 в M1/M2 поляризації макрофагів за умов формування підвищеної маси тіла» повністю відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії» від 9 червня 2021 р. № 608 щодо дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 р., а її автор Боряк Христина Радиславівна має необхідний рівень наукової кваліфікації і заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина.

Завідувач кафедри внутрішньої медицини № 3  
та ендокринології Харківського національного  
медичного університету МОЗ України,  
Заслужений діяч науки і техніки України,  
д.мед.н., професор



Л.В. Журавльова