

## ВІДГУК

проректора з наукової роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, професора кафедри функціональної і лабораторної діагностики, доктора біологічних наук **Кліща Івана Миколайовича** на дисертаційну роботу аспірантки кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України **Юхимчук Алли Володимирівни** на тему: «Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)», представлену до захисту в спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.123 у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

**Актуальність теми дослідження.** Чіткі морфологічні, фізіологічні, генетичні відмінності чоловічого та жіночого організмів *a priori* дозволяють припустити існування певних гендерних особливостей фармакодинаміки, фармакокінетики та безпеки лікарських засобів. Парадоксальним чином гендерні особливості відповіді на фармакотерапію стали привертати увагу фармакологів лише останніми роками. Зайвим було б доводити зацікавленість практичних лікарів у вирішенні цієї проблеми. Проте, положення про залежність фармакологічної активності та токсичності лікарських засобів мало обґрунтовано науковцями або торкається лише окремих груп препаратів. Натомість, Федеральна агенція з харчових продуктів і лікарських засобів США та Європейська агенція з оцінювання лікарських засобів вже більш все більше звертають увагу клінічних дослідників на необхідність диференційованого гендерного підходу до аналізу результатів, які вони отримують у клінічних випробуваннях.

Різні етапи розвитку чоловічого та жіночого організму (репродуктивний статус, вагітність, лактація, перед- та постклімактеричні періоди), супутні захворювання, прийом лікарських препаратів супроводжуються досить суттєвим коливанням рівня статевих гормонів. Проте питання, яким чином ці зміни можуть впливати на перебіг патологічних процесів, а також фармакологічний ефект та токсичність лікарських засобів,

здатних захищати організм людини від дії стресогенних станів, залишається відкритим.

Одним з таких станів обґрунтовано вважається вплив екстремально низьких температур. У сучасному світі проблема холодової травми та її наслідків набуває особливого значення, що пов'язано з несприятливими кліматичними умовами, війнами, соціальними, політичними, економічними та техногенними впливами, роботою в умовах надзвичайних ситуацій тощо.

Аналіз сучасної літератури переконливо доводить той факт, що дослідження гендерних відмінностей ефективності такої важливої групи лікарських засобів, як фригопротектори, до яких належить глюкозаміну гідрохлорид, а також механізмів реалізації цих відмінностей, становлять значний науковий інтерес.

На підставі наведених міркувань можна вважати, що тема дисертаційної роботи А.В. Юхимчук відноситься до актуальних сучасних наукових тем.

#### **Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.**

Робота виконана в рамках планової НДР кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України: «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (№ держреєстрації 0118U001903, 2018-2022). Дисертантка є співвиконавцем зазначеної теми.

Наукову ідею дослідження, основні напрямки експериментів та оцінку отриманих результатів узгоджено з Національним фармацевтичним університетом (договір про співробітництво від 08.02.2021 року).

Дослідження ґрунтується на достатньому за обсягом експериментальному матеріалі: 290 щурів лінії Вістар та 66 нелінійних мишах обох статей. Під час виконання роботи було дотримано необхідні методи етичного положення з тваринами (висновок комісії з біоетики протокол №10 від 02.12.2021 та протокол №2 від 31.01.2024 р.) Основним принципом при виборі методів була їх максимальна інформативність та відповідність поставленим задачам. Всі досліди з виявлення ефектів препарату у тварин різної статі виконані із урахуванням хронофармакологічних чинників та

синхронно з відповідним контролем. Етапи дослідження виконані відповідно до розробленої загальної методики, є логічними та обґрунтованими.

Дисертанткою проведено інформаційно-патентний пошук, у роботі проаналізовано 237 джерел зарубіжної і української літератури переважно за останнє десятиріччя. У роботі коректно сформульована мета, для реалізації якої були поставлені чіткі завдання і адекватно підібрані сучасні методи дослідження і аналізу даних. Рівень виконання експериментів, статистичної обробки отриманих результатів, їхня інтерпретація та узагальнення проведені на сучасному науковому рівні. Отже, науковий рівень дисертації за поставленими завданнями і використаними методиками досліджень передовим, сучасним і адекватним. Отримані результати є достовірними і науково обґрунтованими.

**Новизна представлених теоретичних та експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.** Отримані здобувачем наукові результати дослідження, основні положення та висновки дисертації відзначаються науковою новизною. А.В. Юхимчук уперше виконала комплексне дослідження секс-специфічної судинної відповіді організму на гостре загальне охолодження, та оцінила участь статевих гормонів у реалізації цих відмінностей. Нею проведено дослідження особливостей фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду в мишей та щурів різної статі за умов гострої холодової травми.

Авторкою було продемонстровано, що за умов перебування під впливом екстремально низьких температур ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) тривалість життя самок мишей за була вірогідно більшою, аніж у самців. Вперше показано, що кастрація самців збільшує показник виживаності, тоді як тривалість життя кастрованих самок мишей зменшується порівняно зі статевозрілими тваринами. Дістало подальшого розвитку оцінка здатності глюкозаміну гідрохлориду статистично вірогідно збільшувати тривалість життя у тварин обох статей, при цьому вперше показано, що його захисна дія була більш виразною у самців піддослідних тварин.

Дисертантка отримала результати, які доповнюють наукові дані щодо змін в системах гемостазу та мікроциркуляції за дії холодового чинника у тварин різної статі. 2-х годинне перебування щурів в умовах гострого загального охолодження організму викликає статистично вірогідне погіршення кровопостачання відкритих ділянок тіла тварин (вушних раковин, задніх кінцівок та хвоста з переважанням у самців), зростання показників зовнішнього та внутрішньосудинного коагуляційного гемостазу, а також активацію спонтанної та АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів, причому виразність вказаних змін була більшою в тварин чоловічої статі. Оваріекторія та орхідектомія тварин супроводжувалась змінами стать-специфічного вектора реологічних та мікроциркуляторних порушень: у самців ступінь змін на тлі холодового чинника були вірогідно меншими ніж у самок. Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду протидіяло порушенням в системах мікроциркуляції та згортанні крові, спричинених дією холодового чинника у тварин обох статей, більшою мірою у самців.

Поглиблено знання про біохімічні порушення за гострої холодової травми, які виникають у тварин різної статі та рівня насиченості організму статевими гормонами, а також досліджено механізми фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду за даних умов експерименту. Доказово продемонстровано, що холодний чинник викликає розвиток ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення, причому їх виразність була більшою у тварин чоловічої статі. У кастрованих щурів ступінь виразності вказаних змін набував протилежної спрямованості. Глюкозаміну гідрохлорид за лікувально-профілактичного введення на тлі гострого загального охолодження виявляє антиоксидантну, ендотеліопротекторну та протизапальну активності з переважанням в особин чоловічої статі.

В роботі Юхимчук А.В. розширено дані щодо стать-специфічних змін мікроструктури шкіри хвоста за гострої холодової травми та профілактично-лікувальної дії фригопротектора. Авторка вперше довела, що морфологічні порушення епідерміса, дерміи та нервових волокон, порушення мікрогемоциркуляції, еритро- та лейкостаз, мікротромбози, периваскулярний

набряк, ознаки ендотеліальної дисфункції, спричинені гострим загальним охолодженням, були більш виразними в самців тварин порівняно з самками. Глюкозаміну гідрохлорид за профілактично-лікувального застосування зменшував прояви патологічних змін морфоструктури шкіри у тварин обох статей, більшою мірою у тварин чоловічої статі.

Отримані в процесі виконання роботи результати в повній мірі оприлюднені в фахових наукових виданнях. Загалом за матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць. Серед них 5 статей опубліковано в наукових фахових журналах (1 входить до міжнародної наукометричної бази Web of Science), 4 статті в фахових наукових періодичних виданнях України у галузі медичних наук, зареєстрованих у ДАК МОН України, 4 тез доповідей на наукових форумах.

**Наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Проведене дослідження відповідає поставленим меті та завданням, викладено доступно і послідовно. Сучасний науково-методичний рівень роботи, відповідність вибірки критеріям репрезентативності, висока інформативність використаних методів дослідження дозволяють вважати результати дослідження, наукові положення, висновки і рекомендації достовірними та науково обґрунтованими.

Висновки, наведені у дисертаційній роботі, добре аргументовані та логічно витікають зі змісту основних положень роботи. Отримані дисертанткою результати достатньо оприлюднені у фахових наукових виданнях та збірниках матеріалів наукових конференцій. Результати дисертаційної роботи Юхимчук А.В. є перспективними для впровадження в діяльність наукових установ, що займаються даною проблемою, використання в освітньому процесі та науковій діяльності.

**Рівень виконання поставленого наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.** Дисертантка в повній мірі оволоділа методологією наукової діяльності, що дало змогу виконати

поставлене наукове завдання на високому науково-методичному рівні. Зокрема, Юхимчук А.В. провела патентний пошук, аналіз наукової літератури за темою дослідження, визначила мету, завдання роботи та запланувала тему роботи. Під час виконання експериментального дослідження опанувала всі необхідні фармакологічні, експериментальні методи моделювання гострого загального охолодження, оцінку фригопротекторної активності та інші методики, використані в роботі (біохімічні, електрофізіологічні, імуноферментні, морфологічні). Одержані результати опрацьовані сучасними валідними методами статистичної обробки. Для формування бази даних було використано редактор електронних таблиць Microsoft Excel 2010. Обробку первинного матеріалу проведено за допомогою офісного пакета Microsoft Excel та Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). В процесі аналізу, інтерпретації та узагальнення отриманих результатів дисертантка спиралась на сучасні досягнення спеціалістів в даній галузі медицини, в повній мірі оволоділа навичками підготовки та публікації наукових праць, формулюванню висновків дисертації. Комплексне використання вищезазначених навичок дозволило виконати сформульовані в роботі завдання та досягти поставленої мети дослідження.

**Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.** Результати наукового дослідження Юхимчук А.В. розширюють уявлення про фармакодинаміку глюкозаміну гідрохлориду в особин чоловічої та жіночої статі та доповнюють фармакологічне досвід цього препарату. Детальне дослідження ролі гонадальних гормонів у формуванні статевих відмінностей та реалізацію фригопротекції дає змогу прогнозувати ефективність фармакотерапії ГХТ зазначеним лікарським засобом у осіб різної статі. Отримані дані дають теоретичні підстави для розробки рекомендації щодо персоніфікованого лікування холодкових травм в клінічних умовах.

Результати дослідження впроваджені у науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного

університету, кафедри технологій медичної діагностики та лікування ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка, кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та в науковий процес лабораторії молекулярної фармакології та медицини Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

**Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.** Зміст дисертації Юхимчук А.В. викладено українською мовою на 175 сторінках друкованого тексту (основна текстова частина – 137 сторінок) і включає анотацію, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 2 розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення одержаних результатів, висновки, список використаних літературних джерел, що містить 237 найменування (56 кирилицею, 181 латиницею), додатки. Робота ілюстрована 32 рисунками та 18 таблицями.

В **анотації** стисло показана актуальність проведеного дослідження, сформульовані мета та завдання, визначені об'єкт та предмет дослідження, описані основні отримані результати, їх наукова новизна та практичне значення. Всі підрозділи викладені згідно існуючих вимог.

У **вступі** дисертантка обґрунтовує актуальність теми дисертаційної роботи, чітко визначає напрямок наукового дослідження, формулює мету та завдання дослідження, обговорює об'єкт та предмет дослідження, висвітлює наукову новизну, теоретичне та практичне значення отриманих результатів. Юхимчук А.В. наводить дані про апробацію дослідження, власні публікації відповідно до теми дисертації, характеризує обсяг та структуру роботи.

**Перший розділ** дисертації викладений на 23 сторінках, присвячений обґрунтуванню обраного напрямку даного дослідження на підставі проведеного літературного огляду з проблеми, що вивчалась. Він має назву «Роль статевих чинників в розвитку холодової травми та індивідуалізації фригопротекторної фармакотерапії (огляд літератури)». Авторка наводить дані щодо статевих відмінностей в поширеності та лікуванні патологічних станів та холодової травми, описує сучасні погляди на патогенез холодової

травми та підходи до її лікування, дає коротку характеристику фригопротекторів а також окремим підрозділом (1.3.) характеризує глюкозаміну гідрохлорид як перспективний фригопротекторний засіб, підкреслюючи при цьому невирішені та дискусійні питання.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» описано дизайн, відображені матеріал та методи дослідження. Він має обсяг 14 сторінок. В ньому дисертантка дає детальну характеристику експериментальних тварин, наголошує на дотримання основних біоетичних норм під час проведення досліджень, а також детально представляє дизайн дослідження, з таблицями та цікавими ілюстраціями.

Досить грамотно описано моделювання холодової травми у тварин, чітко та доказово описані методи моделювання вмісту статевих гормонів в організмі, а також комплекс електрофізіологічних, біохімічних та морфологічних методів дослідження.

Розділ 3 «Дослідження ролі статі та різного рівня насиченості організму статевими гормонами в чутливості організму тварин до гострого загального охолодження», складається з 7 підрозділів, викладений на 34 сторінках. В ньому проведений базовий аналіз секс-специфічної судинної реакції організму експериментальних тварин в умовах гострої холодової травми. Спершу авторка наводить результати скринінгових досліджень витривалості статево-зрілих особин жіночої та чоловічої статі за умов екстремального гострого загального охолодження, визначаючи більшу стійкість до дії холодового чинника у тварин жіночої статі. Показано, що провідна роль в цьому феномені належить гонадальним гормонам, позаяк гонадектомія самців підвищувала тривалість життя тварин в умовах ГЗО на 27,5 %, а кастрація самок – зменшувала його на 10,5 % ( $p < 0,05$ ). Електрофізіологічними методами визначено ступінь мікроциркуляції основних органів-мішеней негативного впливу холодового чинника, показано, що найбільш вразливими виявились задні кінцівки, дещо менше вушні раковини, і найменший ступінь погіршення кровоплину зареєстровано у судинах хвоста.

Молекулярні механізми судинних порушень за ГХТ характеризуються розвитком розвитку ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу та запалення. Дисертанткою встановлено, що неабияку роль в існуванні статевих відмінностей за цієї патології відіграють зміни гемостазіологічних показників, а саме – агрегаційного та коагуляційного гемостазу, які свідчать про активацію тромбоутворення та підвищення ризик розвитку ДВЗ синдрому. Як мікроциркуляторні, так і гемостатичні і біохімічні порушення більшою мірою були вираженими у самців тварин. При цьому хірургічна оваріектомія та орхідектомія самок та самців відповідно змінювала вектор статевих відмінностей на протилежний, коли виразність порушень превалювала у кастрованих тварин жіночої статі. Отримані дані підтверджені результатами морфологічного дослідження шкіри тварин різної статі та рівня насиченості організму статевими гормонами після 2-х годинного перебування тварин в умовах гострого загального охолодження.

Цей розділ ілюстрований 14 рисунками та 11 таблицями, завершується коротким резюме та посиланнями на публікації, які висвітлюють отримані авторкою результати.

**Розділ 4 «Дослідження захисної дії глюкозаміну гідрохлориду у тварин різної статі за умов гострої холодової травми»** складається з 6 підрозділів, викладений на 25 сторінках. Отримані Юхимчук А.В. результати переконливо засвідчили наявність у глюкозаміну гідрохлориду потужних фригопротекторних властивостей у тварин обох статей, причому саме у самців щурів вказані ефекти препарату були більш виразними.

Фригопротекторна дія досліджуваного аміноцукру реалізується через коригуючий вплив на ряд патофізіологічних та біохімічних порушень судинного стану, ініційованих гострою холодовою травмою, серед яких протизапальна дія (достовірне зниження сироваткового рівня IL-1 $\beta$ ), антиоксидантна, підтверджена падінням активності НАДФН-оксидази та зростанням активності СОД в сироватці крові, нормалізація процесів згортання крові (зменшення активності згортальної поряд із зростанням активності протизгортальної системи та фібринолізу) та судинної адгезії

(зниження сироваткового рівень sVCAM-1), збільшення чутливості ендотелію судин до дії вазодилататорів. Вказані біохімічні зміни співставляються із покращенням периферичної мікроциркуляції в задніх кінцівках, вушних раковинах та хвості тварин та підтверджуються результатами морфологічних досліджень.

Цей розділ, як і попередній, написаний гарною мовою, логічний і зрозумілий, послідовно відображає отримані авторкою результати. Він ілюстрований 2 таблицями та 16 рисунками. Наприкінці розділу наведені посиланнями на публікації, які висвітлюють отримані результати.

**Розділ 5 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження»** (15 сторінок машинопису). В ньому авторка лаконічно, послідовно і логічно підводить підсумок важливої за змістом наукової роботи із проведеним коректним порівнянням результатів власних досліджень із даними інших авторів. Дисертанткою представлено власне бачення та розуміння науково-практичної задачі та можливих шляхів її розв'язання.

Основний зміст одержаних результатів відображено у 5 **висновках** які сформульовані вдало, є чіткими, логічними, аргументованими, відповідають завданням, базуються на достовірному матеріалі та свідчать про досягнення поставленої мети. Список використаних джерел наукової літератури оформлений відповідно до існуючих вимог до оформлення дисертації Міністерства освіти і науки України з використанням APA style (American Psychological Association, 2023) та містить 237 найменування, з яких 56 викладено кирилицею, 181 латиницею. Контрент-аналіз цитуємих джерел показав, що переважна більшість використаної літератури датована останніми 5 роками, в інших випадках цитування джерел є цілком виправданим.

**В додатках** наведений список праць за темою дисертації, їх оприлюднення на наукових форумах різного рівня, а також акти впровадження результатів в наукову роботу та науково-педагогічних процес.

**Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.** Використаний авторкою експериментальний підхід до вивчення стать-специфічної корекції патологічних станів, зумовлених дією

екстремальних температур, доцільно використовувати і при вивченні інших фригопротекторних лікарських засобів.

Результати дослідження можуть слугувати базою для розробки нових клінічних підходів щодо лікувальної тактики у постраждалих з холодовою травмою, резервом поліпшення персоніфікованої терапії цієї патології.

**Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.** Принципових зауважень до змісту і оформлення дисертації немає, однак в тексті окремих розділів дисертації є повтори, стилістичні та граматичні помилки, зокрема використовуються слова наступні (треба – *такі*), даного (треба – *цього чи нашого*), в один строк (треба – *одночасно*). Окрім цього хотів би вказати на такі зауваження:

1. У огляді літератури варто було навести коротке резюме (там є тільки один невеличкий абзац) у якому коротко описати, які аспекти досліджуваної проблеми вже вивчені, які потребують подальшого вивчення чи дискутабельні і таким чином підвести до мети проведеного дослідження.
2. У назві деяких таблиць (табл. 2.3, 3.3, 3.4 тощо) вказана кількість тварин, що не можна робити, позаяк не зрозуміло, це загальна кількість, чи їх стільки у кожній групі.
3. З фармакологічної точки зору вважаю не зовсім коректним використання терміну «захисна дія» стосовно досліджуваного препарату.

При проведенні рецензування роботи виникли деякі запитання, на які хотілось би почути думку дисертантки, а саме:

1. Вами показано, що глюкозаміну гідрохлорид має коригуючий вплив на систему гемостазу за умов гострої холодової травми. На Вашу думку, який механізм лежить в основі такого впливу?
2. Аналізуючи вплив глюкозаміну гідрохлориду на загальноклінічні, біохімічні, електрофізіологічні та інші показники, які Вами вивчались, встановлено більш виразну протективну дію саме на самців. Як Ви можете це пояснити?

3. Вами вказано, що вибування тварин з експерименту проводилось за обставин, які не пов'язані з застосуванням препарату, з зазначенням причини вибування, наприклад, внаслідок маніпуляційних помилок. А чи проводилось патанатомічне дослідження цих тварин?

**Дані щодо відсутності порушень академічної доброчесності.** Принципи академічної доброчесності при виконанні дисертаційного дослідження та написанні роботи були дотримані автором у повній мірі. За результатами перевірки дисертації на плагіат програмним засобом «*Anti-Plagiarism v-15.257*», рівень оригінальності становить 89,68 %. Тобто, можна вважати, що робота виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції). Усі запозичення з друкованих та електронних джерел, а також із захищених раніше науково-дослідних робіт, кандидатських і докторських дисертацій мають відповідні посилання та цитування, оформлені у відповідності до діючих правил.

**Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.** Дисертаційна робота Юхимчук Алли Володимирівни на тему: «Статеві відмінності реовазотропної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострої холодової травми (експериментальне дослідження)», подана на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» є завершеною науковою працею, що містить нові наукові положення та результати, які розв'язують важливе науково-прикладне завдання медицини та експериментально обґрунтовують нові підходи до фригопротекції на основі дослідження статевих особливостей судинних і реологічних порушень за гострої холодової травми та на тлі корекції глюкозаміну гідрохлоридом. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації.

Представлена дисертаційна робота Юхимчук Алли Володимирівни є актуальною і своєчасною, вносить суттєвий вклад у теоретичну та практичну

галузь охорони здоров'я, кафедр фармакології, патофізіології, фармації та інших кафедр медико-біологічного профілю закладів вищої освіти. За методологічним рівнем виконання, змістом, науковою новизною, обґрунтованістю основних положень, висновків і рекомендацій відповідає «Вимогам до оформлення дисертації», затверджених наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р. та постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», №44 від 12.01.2022 р. (із змінами і доповненнями, внесеними постановами Кабінету Міністрів України від 21 березня 2022 року № 341, від 19 травня 2023 року № 502 та від 3 травня 2024 року №507), а її авторка Юхимчук Алла Володимирівна заслуговує присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Проректор закладу вищої освіти  
з наукової роботи, професор кафедри  
функціональної і лабораторної діагностики  
Тернопільського національного медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,  
доктор біологічних наук, професор

Іван КЛІЩ