

ВИСНОВОК

наукового керівника чл.-кор. НАНУ, д.м.н., проф. Сагача В.Ф. на
дисертаційну роботу

Денисовой Майї Володимирівни

**«Механізми розвитку та попередження доксорубіциніндукованого
пошкодження серця»,**

виконаної на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 Охорона
здоров'я, за спеціальністю 222 Медицина

**Загальна характеристика та оцінка роботи здобувача. Рівень знань,
умінь і навичок.**

Денисова Майя Володимирівна у 2004 році закінчила з відзнакою Національний Медичний Університет ім. О.О. Богомольця за спеціальністю «Лікувальна справа», надалі інтернатуру за спеціальністю «Терапія». У 2006 році пройшла спеціалізацію «Анестезіологія та реанімація», працювала на посаді лікаря-анестезіолога у відділенні інтенсивної терапії Госпіталя УВС м. Києва. У 2008 році пройшла спеціалізацію «Кардіологія», працювала на посаді лікаря-кардіореаніматолога в інфарктному відділенні з блоком кардіореанімації у КМКЛІ №5, за сумісництвом – викладачем Київського Медичного Університету (ПВНЗ КМУ) дисципліни «Госпітальна терапія». У 2016 році пройшла спеціалізацію «Функціональна діагностика». З 2017 року веде консультативно-діагностичний прийом кардіологічних хворих на посаді лікаря-кардіолога. У 2019 році здобула вищу кваліфікаційну категорію за спеціальністю «Кардіологія». Того ж року вступила до аспірантури Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у відділ фізіології кровообігу. Науковий керівник дисертації – чл.-кор. НАНУ, д.м.н., проф. Сагач В.Ф.

Задіяна до виконання загального плану науково-дослідних робіт відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Роль мітохондріальних механізмів у розвитку та попередженні порушень серцево-судинної функції при старінні», 2019-2023 рр. (№

держреєстрації 0123U102876) та «Редоксзалежні механізми змін функціонування серцево-судинної системи при старінні та доксорубіциніндукованій серцевій недостатності», 2024-2026 рр. (№ держреєстрації 0124U001684).

Аспірантка повністю пройшла курс навчання, самостійно провела дослідження, підготувала дисертаційну роботу. Під час виконання дисертаційної роботи сформуvala мету та завдання експериментальних досліджень, проаналізувала отримані результати, обґрунтувала наукові висновки разом із науковим керівником. Аналіз наукової літератури за проблемою дисертації, проведення досліджень, статистичний аналіз даних, опис та узагальнення результатів здійснені здобувачем самостійно. Проявила себе відповідальним та дисциплінованим дослідником.

У 2024 році закінчила аспірантуру, освітня-наукова програма виконана аспіранткою в повному обсязі.

Аспірантка повністю відповідає 8 кваліфікаційному рівню. Має концептуальні та методологічні знання, необхідні для виконання своєї професійної діяльності. За час навчання в аспірантурі освоїла спеціалізовані навички і методи, необхідні для розв'язання значущих проблем у сфері професійної діяльності, науки та інновацій. А також започаткування, планування, реалізації та коригування послідовного процесу ґрунтовного наукового дослідження з дотриманням належної академічної доброчесності. Набула досвіду у критичному аналізі, оцінці і синтезі нових та комплексних ідей.

Вільно спілкується з колегами та широкою науковою спільнотою з питань, що стосуються сфери наукових та експертних знань. Використовує академічну українську мову у доповідях на конференціях та написанні дисертації та статей. Володіє англійською мовою на рівні B1-B2.

Демонструє авторитетність, інноваційність, високий ступінь самостійності, академічну та професійну доброчесність, віддана розвитку

нових ідей або процесів у передових контекстах професійної та наукової діяльності. Здатна до безперервного саморозвитку та самовдосконалення.

Актуальність теми дисертаційної роботи.

Доксорубіцин був виділений на початку 1960-х років й досі залишається одним з найефективніших протиракових препаратів у світі, тому становить основу клінічного протокольного лікування як дітей, так і дорослих з гострими лейкеміями, лімфомами, абсолютною більшістю солідних пухлин, а також саркоми Юінга і Капоші (Casali et al., 2018). Проте препарат негативно впливає на нейрони, нирки, легені, шлунок та серце. Ураження міокарда доксорубіцином має дозозалежний, прогресуючий та потенційно летальний характер. Частота виникнення у пацієнтів доксорубіциніндукованої кардіоміопатії в залежності від дози може сягати 36-48%, а рівень смертності від неї становить понад 50% (Wallace et al., 2020). Серед усіх вікових категорій найбільш чутливими до кардіотоксичної дії доксорубіцину є діти (Volkova and Russell, 2011). Рання та прогресуюча кардіотоксичність антрациклінів, асоційовані зі зниженням фракції викиду лівого шлуночка, можуть проявлятися протягом року у вигляді дилатаційної кардіоміопатії у дорослих або рестриктивної кардіоміопатії у пацієнтів молодшого віку (Cardinale et al., 2020; Saleh et al., 2020). Антрациклінова кардіотоксичність також може проявлятися через тривалий проміжок часу після закінчення лікування як пізня незворотна серцева недостатність (Cardinale et al., 2020), що спостерігалось у 65% пацієнтів дитячого віку та у 12% дорослих (Saleh et al., 2020). Єдиним ефективним методом лікування пізньої серцевої недостатності на термінальній стадії залишається трансплантація серця (Oliveira et al., 2021). Отже, краще розуміння механізмів, які лежать в основі кардіотоксичності доксорубіцину, дасть змогу розробити методи попередження та лікування серцевої недостатності, яку він спричиняє. Було показано, що механізми розвитку доксорубіциніндукованої кардіоміопатії включають: генерацію активних форм кисню (АФК), індукцію мітохондріальної пори транзиторної провідності (МП), неспряження

окисного фосфорилування та зменшення вироблення АТФ, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) та пошкодження мембран, пригнічення експресії специфічних генів, апоптоз та некроз кардіоміоцитів (Wallace et al., 2020). Одним із прогресивних підходів до профілактики та лікування серцево-судинних захворювань є розробка та використання лікарських засобів на основі активації АТФ-чутливих калієвих каналів, які є потужним ендogenous захисним механізмом клітини у разі дефіциту енергії (Акорова et al., 2001) та центральною ланкою кардіопротекції при ішемії-реперфузії міокарда (Moïbenko et al., 2008; Zhou et al., 2011). В останні роки велику увагу приділяють фторвмісним активаторам, потужні антиішемічні, вазодилататорні, антиоксидантні та кардіопротекторні властивості яких були показані в експериментах (Рувовар et al., 2008; Strutynskyi et al., 2018). Але механізми попередження пошкодження міокарда фторвмісним активатором флокаліном в умовах дії доксорубіцину ще не були досліджені. Ця робота присвячена вивченню механізмів пошкодження міокарда щурів доксорубіцином та ролі активації K_{ATP} -каналів флокаліном у попередженні розвитку доксорубіциніндукованого ураження серця.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана відповідно до загального плану науково-дослідних робіт відділу фізіології кровообігу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України: «Роль мітохондріальних механізмів у розвитку та попередженні порушень серцево-судинної функції при старінні», 2019-2023 рр. (№ держреєстрації 0123U102876) та «Редоксзалежні механізми змін функціонування серцево-судинної системи при старінні та доксорубіциніндукованій серцевій недостатності», 2024-2026 рр. (№ держреєстрації 0124U001684).

Мета і завдання дослідження.

Метою роботи було вивчення механізмів розвитку та попередження доксорубіциніндукованого пошкодження серця у щурів.

Для досягнення поставленої мети сформульовані такі завдання:

1. З'ясувати вплив доксорубіцину та сумісного введення флокаліну з доксорубіцином на показники оксидативного стресу, конститутивного синтезу оксиду азоту (NO), продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також синтезу ендогенного сірководню (H_2S) в мітохондріях серця щурів.
2. Оцінити зміну показників оптичної щільності суспензії мітохондрій та чутливість мітохондріальної пори транзиторної проникності (МП) до індуктора її відкриття – кальцію у серці щурів в умовах розвитку токсичної кардіоміопатії та при сумісному введенні флокаліну та доксорубіцину.
3. Вивчити механізми впливу доксорубіцину та сумісного введення флокаліну з доксорубіцином на процеси скорочення-розслаблення судин ізольованих препаратів аорти щурів.
4. Дослідити зміни електорокардіограми (ЕКГ) щурів після впливу доксорубіцину, а також за умов відкриття K_{ATP} -каналів сумісно з дією доксорубіцину.
5. Визначити вплив доксорубіцину та флокаліну сумісно з доксорубіцином на активність маркерів пошкодження міокарда, а також вміст глюкози у плазмі крові щурів.
6. Дослідити зміни кардіогемодинаміки щурів за умов розвитку доксорубіциніндукованого пошкодження міокарда та активації АТФ-чутливих калієвих каналів на тлі дії доксорубіцину.
7. Дослідити ультраструктурні зміни кардіоміоцитів під впливом доксорубіцину та сумісного введення доксорубіцину та флокаліну.

Наукова новизна отриманих результатів. Проведено комплексне дослідження механізмів кардіотоксичної дії доксорубіцину у щурів та механізмів попередження розвитку доксорубіциніндукованого пошкодження міокарда через активацію АТФ-чутливих калієвих каналів вітчизняним препаратом флокаліном. Була застосована короткострокова модель гострого

пошкодження міокарда субмаксимальною дозою доксорубіцину у двох введеннях. Активація $K_{ATФ}$ -каналів досягалася введенням флокаліну. Вперше продемонстровано, що сумісне введення доксорубіцину та флокаліну запобігає проявам оксидативного стресу в мітохондріях серця щурів, про що свідчить зниження швидкості генерації супероксидного та гідроксильного радикалів та зменшення вмісту пероксиду водню. Достовірно менший вміст продуктів неферментативного окиснення ліпідів вказує на потужний мембранопротекторний ефект активації $K_{ATФ}$ -каналів та підтверджується зменшенням у плазмі крові щурів концентрації глюкози та активності факторів пошкодження міокарда. Вперше показано, що застосування активатора АТФ-чутливих калієвих каналів сумісно з доксорубіцином не призводить до зменшення вмісту H_2S та активності mtNOS у мітохондріях серця. Нами вперше продемонстровано, що активація $K_{ATФ}$ -каналів на тлі дії доксорубіцину пригнічує Ca^{2+} -індуковане відкривання МП та зменшує її підвищену чутливість до індуктора у мітохондріях серця щурів. Вперше було проведено ЕКГ-дослідження щурів після введення доксорубіцину з флокаліном та продемонстровано попередження як хронотропній дисфункції серця, так і порушення провідності та кровопостачання міокарда, зокрема, внаслідок запобігання розладу процесів скорочення-розслаблення артеріальних судин. Вперше було проведено *in vivo* комплексне кардіогемодинамічне дослідження тварин після введення флокаліну сумісно з доксорубіцином та виявлено, що активація $K_{ATФ}$ -каналів частково попереджає насосну та систолічну дисфункцію лівого шлуночка, спричинену адріаміцином. Вперше виявлено, що одночасне введення флокаліну з доксорубіцином запобігає порушенню мітохондріального біогенезу та руйнуванню міофібрилярного апарату. Таким чином, нами вперше показане попередження розвитку гострої токсичної доксорубіциніндукованої кардіоміопатії у щурів внаслідок активації $K_{ATФ}$ -каналів флокаліном.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.
Отримані результати представляють як теоретичну (фундаментальну), так і

практичну цінність. Результати комплексного дослідження функціональних та структурних проявів гострої токсичної доксорубіциніндукованої кардіоміопатії та механізмів, асоційованих з цими змінами, відносяться до фундаментальних відомостей щодо розвитку даної патології, розширюють існуючі уявлення про неї та обґрунтовують як можливість попередження, так і ризику прогресування ремоделювання міокарда з розвитком незворотної серцевої недостатності. Результати дослідження функціональних та структурних змін міокарда після активації АТФ-чутливих калієвих каналів флокаліном на тлі токсичної дії доксорубіцину вперше демонструють механізми попередження гострої доксорубіциніндукованої кардіоміопатії при відкриванні K_{ATP} -каналів та мають практичну цінність. Отримані результати можуть бути використані для подальшого вивчення механізмів попередження розвитку токсичної кардіоміопатії, а також впроваджені у клінічну практику.

Обґрунтованість наукових положень. Дисертаційна робота являє собою рукопис обсягом 158 сторінок. Дисертація складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, розділу результатів досліджень та їх обговорення й узагальнення, висновків, списку використаних літературних джерел, який нараховує 361 посилання. Робота проілюстрована 7 таблицями та 28 рисунками.

Положення та висновки, отримані автором у процесі дослідження, належним чином аргументовані та науково обґрунтовані. Достовірність сформульованих у дисертації наукових положень та висновків підтверджується їх науковим обґрунтуванням, яке базується на критичному осмисленні здобутків вітчизняних та зарубіжних вчених, застосуванням системного підходу, відповідністю використаних наукових методів дослідження та математичної статистики, структурованістю та логічною послідовністю етапів дослідження, значним обсягом опрацьованих джерел.

Викладення матеріалу дисертації в наукових публікаціях

За результатами виконання дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових праць: зокрема 3 публікації у наукових фахових виданнях України

категорії А, що включені до науково-метричної бази Scopus; патент на корисну модель та 9 тез доповідей на наукових вітчизняних та зарубіжних конференціях. Відповідно до п.8 Постанови КМУ № 44 від 12 січня 2022 року, враховано кількість 3.0 публікацій, у яких висвітлені результати дисертаційної роботи.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. **М.В. Денисова, Н.А. Струтинська, Л.А. Мись, Ю.П. Коркач, К.В. Розова, В.Ф. Сагач.** Розвиток мітохондріальної дисфункції при гострій кардіотоксичній дії доксорубіцину у дорослих щурів. *Фізіол журн.* 2023; 69(6):3-14. *(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)*
DOI: <https://doi.org/10.15407/fz69.06.003>
2. **М.В. Денисова, Н.А. Струтинська, Л.А. Мись, Ю.П. Коркач, О.М. Магомедов, Р.Б. Струтинський, В.Ф. Сагач.** Ранні маркери гострої доксорубіциніндукованої кардіотоксичності та деякі механізми її розвитку. *Фізіол журн.* 2024; 70(1): 3-13. *(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)*
DOI: <https://doi.org/10.15407/fz70.01.003>
3. **M.V. Denysova, N.A. Strutynska, L.A. Mys, Y.P. Korkach, V.F. Sagach, R.B. Strutynskyi.** Activation of ATP-sensitive potassium channels prevents doxorubicin-induced mitochondrial dysfunction in the heart and impaired vascular responses in rats. *Fiziol Zh.* 2024; 70(2): 3-11. *(особистий внесок здобувача: інформаційний пошук, експериментальні дослідження, опис та статистичне опрацювання результатів, графічна підготовка результатів та написання статті)*

Патент на корисну модель (реєстраційний номер прийнятої заявки № U202400647, від 08.02.24): **Денисова М.В.**, Мись Л.А., Коркач Ю.П., Струтинська Н.А., Струтинський Р.Б., Розова К.В., Сагач В.Ф. Спосіб моделювання *in vivo* гострої реверсивної токсичної кардіоміопатії у щурів.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

Тези доповідей:

1. **M.V. Denysova**, N.A. Strutynska, V.F. Sagach. Administration of doxorubicin increases the sensitivity of the mitochondrial permeability transition pore to calcium and causes pathological changes in the electrocardiography. Heart Failure 2023 & 10th World Congress on Acute Heart Failure, 20-23 May, 2023, Prague, Czechia, European Journal of Heart Failure. 2023;25(Suppl. S2).
2. **Денисова М.В.**, Струтинська Н.А., Сагач В.Ф. ЕКГ як метод ранньої діагностики гострої доксорубіциніндукованої кардіотоксичності у щурів. XI науково-практична конференція «European Scientific Congress», 27-29.11.2023, Харків, Україна, Збірник наукових матеріалів конференції ISBN 978-84-15927-34-1 (С. 59).
3. **Денисова М.В.**, Розова К.В., Сагач В.Ф. Порівняльне ультраструктурне дослідження тканини міокарда щурів після введення різних доз доксорубіцину. X Міжнародна науково-практична конференція «Modern Problems of Science, Education and Society», 4-6.12.2023, Київ, Україна, Збірник наукових матеріалів конференції ISBN 978-966-8219-87-0 (С. 201).
4. **Денисова М.В.**, Магомедов О.М., Сагач В.Ф. Вплив доксорубіцину на активність внутрішньоклітинних ензимів кардіоміоцитів та вміст глюкози у плазмі щурів. СXXXVI Міжнародна науково-практична

- інтернет-конференція «Зимові наукові читання – 2023», 22.12.2023, Київ, Україна, Збірник наукових матеріалів конференції «Наука і практика» ISBN 978-1-6497-6221-4 (С. 72).
5. **Денисова М.В.**, Коркач Ю.П., Сагач В.Ф. Оксидативно-нітрозативний стрес як основний механізм розвитку доксорубіциніндукованої кардіотоксичності. XI Міжнародна науково-практична конференція «Modern Problems of Science, Education and Society», 8-10.01.2024, Київ, Україна, Збірник наукових матеріалів конференції ISBN 978-966-8219-87-0 (С. 152).
 6. **Денисова М.В.**, Струтинський Р.Б., Сагач В.Ф. Вплив активації K_{ATP} -каналів на електрокардіографічні та біохімічні маркери гострої доксорубіциніндукованої кардіотоксичності. Науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної науки: історія, теорія, практика», 19.01.2024, Харків, Україна, Мультидисциплінарний науковий часопис «Нотатки сучасної науки» ISSN 2786-6777. 2024;11(1):109-112.
 7. **Денисова М.В.**, Коркач Ю.П., Струтинська Н.А., Струтинський Р.Б., Сагач В.Ф. Мітопротекторні ефекти активатора K_{ATP} -каналів при доксорубіциніндукованому пошкодженні серця. СXXXVII Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Розвиток науки та техніки: виклики 2024 року», 19.01.2024, Чернівці, Україна, Збірник наукових матеріалів конференції «Наука і практика» ISBN 978-1-6497-6221-4 (С.91).
 8. **Денисова М.В.**, Розова К.В., Сагач В.Ф. Вплив активації ATP -чутливих калієвих каналів на ультраструктуру кардіоміоцитів та кардіогемодинаміку щурів, ушкоджених доксорубіцином. Науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної науки: історія, теорія, практика», 20.02.2024, Харків, Україна, Мультидисциплінарний

науковий часопис «Нотатки сучасної науки» ISSN 2786-6777.
2024;13(3):74-76.

9. **M.V. Denysova, Y.P.Korkach, N.A. Strutynska, V.F. Sagach.** Doxorubicin leads to increased oxidative stress and opening of the calcium-induced mitochondrial permeability transition pore. Heart Failure 2024 & 11th World Congress on Acute Heart Failure (11-14 May, 2024, Lisbon, Portugal, European Journal of Heart Failure).

Опубліковані дані повністю відповідають вимогам до опублікування результатів дисертацій, затверджених наказом МОН України № 1220 від 23 вересня 2019 року.

Єдність змісту роботи, оцінка мови та стилю дисертації.

Текст дисертаційної роботи викладено літературною українською мовою логічно та послідовно. Структура дисертації та стиль викладення відповідають вимогам, щодо оформлення дисертацій доктора філософії. Застосована в роботі наукова термінологія є загальноновизнаною, стиль викладення результатів теоретичних та практичних досліджень, нових наукових положень, висновків і рекомендацій забезпечує доступність їх сприйняття та використання.

Опрацьованість літературних джерел.

В тексті дисертаційної роботи наявні посилання на 361 джерело наукової літератури, які повністю висвітлюють стан проблеми у світовій і українській науковій літературі. Відсутні посилання на джерела, опубліковані російською мовою. В цілому дисертація є закінченою науковою працею, що відповідає вимогам спеціальності 222 – Медицина.

Дані про відсутність порушень академічної доброчесності.

Дисертаційну роботу Денисової М.В. було перевірено на академічний плагіат програмою Unicheck. Висновок – ознак академічного плагіату не виявлено.

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота здобувача Денисової Майї Володимирівни за темою «Механізми розвитку та попередження доксорубіциніндукованого пошкодження серця» повністю відповідає вимогам до оформлення дисертацій, які затверджені наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 року зі змінами та доповненнями, внесеними наказом МОН України № 759 від 31.05.2019 року та вимогам 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.

Загальний висновок.

Дисертація здобувача Денисової Майї Володимирівни на тему «Механізми розвитку та попередження доксорубіциніндукованого пошкодження серця» за спеціальністю 222 Медицина повністю відповідає встановленим вимогам та може бути представлена до проведення попередньої експертизи.

Науковий керівник:

чл.-кор. НАНУ, д.м.н., професор

В. Ф. Сагач

