

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Супрун Еліни Владиславівни на дисертаційну роботу ЛЕВЧЕНКО Катерини Віталіївни «Кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов експериментального інфаркту міокарда», подану в спеціалізовану вчену раду Д.26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації. Хвороби системи кровообігу є найбільш поширеною патологією в структурі загальної захворюваності населення України та займають провідне місце в структурі первинної інвалідності та загальної смертності населення (відповідно 23,7% і 65%). Протягом останніх 10 років поширеність хвороб системи кровообігу серед дорослого населення зростає в 1,8 рази а захворюваність – на 55%. Смертність від хвороб системи кровообігу в Україні займає одне з перших місць в Європі по середньому всьому населенню, так і серед населення працездатного віку. Так, щорічно в Україні реєструється 50 тисяч випадків інфаркту міокарда. При цьому статистика смертності від цієї хвороби залишається стабільно високою – від гострого інфаркту міокарда вмирають 30% пацієнтів.

За даними багатоцентрових рандомізованих досліджень, особливе місце у патогенезі кардіоваскулярних захворювань, у тому числі інфаркту міокарда, належить порушенню обміну стероїдних гормонів (як у чоловіків, так і у жінок). Доведено, що стероїдні гормони регулюють енергетичний і ліпідний обмін, а також мають модулюючий вплив на анти- та прооксидантні процеси у клітинах, що обумовлено їх загальнобіологічними властивостями.

На сьогоднішній день в арсеналі сучасної медицини існує багато лікарських препаратів, які застосовуються в гострому періоді інфаркту міокарда. Однак більшість з них впливає на перед- або пост навантаження, але не впливає на метаболізм в клітині, існуючі нині метаболічні препарати не показали своєї ефективності в першу добу даної патології, їх ефект настає через 8-10 діб. Разом з тим, за даними ряду експериментальних досліджень, важливим завданням корекції гіпоксичних станів, є відновлення молекулярно-біохімічних реакцій в клітині, які спрямовані на синтез функціонально-активних молекул, що сприяє відновленню компенсаторних реакцій в клітині. В зв'язку з вищенаведеним подальший пошук нових кардіопротективних лікарських засобів залишається доцільним та актуальним.

Можна сподіватися, що саме дослідження кардіопротективних властивостей агоністів естрогенових рецепторів, а саме селективних модуляторів естрогенових рецепторів (SERM), допоможе визначити шляхи створення нових цитопротекторних препаратів, що будуть застосовуватися при гіпоксичному ураженні клітин є пошук сполук, здатних індукувати фактори ендогенної цитопротекції (HSP-білки, HIF- білки, транскрипційно

активний комплекс HIF, NO та інші). В зв'язку з вищезазначеним, дисертаційна робота Левченко Катерини Віталіївни є вельми актуальною, тому що в ній порівнюється терапевтична ефективність тамоксифена цитрату, тореміфену та референс-препаратів капікор та тіотриазолін в умовах гострого інфаркту міокарда за їх здатністю впливати на патобіохімічні зміни (маркери оксидативного та нітрозуючого стресів, стан енергетичного обміну; експресію і синтез HSP-70-білків, eNOS) серцевої тканини, що викликані експериментальним інфарктом міокарда та експериментально обґрунтовується доцільність використання SERM у комплексному лікуванні гострого інфаркту міокарда.

Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт кафедри клінічної лабораторної діагностики «Запорізького державного медичного університету» та є фрагментом НДР кафедри клінічної лабораторної діагностики ЗДМУ: «Розробка нових ефективних шляхів діагностики та ендогенної цитопротекції ішемічних пошкоджень коронарного та церебрального кровообігу» (№ державної реєстрації 0118U004369).

Як здобувач наукового ступеня кандидата медичних наук Катерина Віталіївна Левченко в своїй роботі спирається на чіткі критерії щодо відтворення окремих патологічних моделей та використання надійних методичних підходів визначення відповідних механізмів патогенезу з одного боку, а з другого – встановлення різних аспектів впливу селективних модуляторів естрогенових рецепторів на показники антиоксидантного та нітротирозуючого стресів, енергетичний обмін, ЕКГ, реологічні властивості крові, морфофункціональні зміни в клітинах, вміст та експресію HSP-білків та eNOS.

Результати досліджень, представлених в дисертації, обґрунтовані об'ємним і достовірним матеріалом. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи наводяться на підставі вичерпного аналізу результатів фармакологічних, біохімічних, морфометричних, імуноферментних, гістоімунохімічних досліджень, що базуються на адекватних методах та достатній статистичній і математичній обробці отриманого цифрового матеріалу, що відповідає міжнародним стандартам. Весь комплекс застосованих методичних прийомів повністю відповідає сформульованим цілі та задачам дослідження, кількість яких достатня для отримання достовірних результатів.

Загальні відомості про роботу. Дисертаційна робота викладена на 178 сторінках комп'ютерного друку, складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків та списку використаних джерел, який включає 244 найменування, з них 113 – кирилицею, 131 – латиницею. Дисертація ілюстрована 19 таблицями та 6 рисунками.

За темою дисертації опубліковано 13 робіт, з них 6 статей у фахових журналах та 7 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій та з'їздів.

Характеристика змісту роботи. Вступ до роботи написано лаконічно із залученням основних посилань на узагальнюючі літературні джерела. Він є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та завдань досліджень. У вступі охарактеризовано наукову новизну дослідження та її науково-практичну цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних, базових результатів досліджень.

Огляд літератури висвітлює молекулярно-біохімічні механізми ішемії кардіоміоцитів та фармакологічну корекцію метаболічних змін за умов гострого інфаркту міокарда і складається з трьох підрозділів: «Молекулярно-біохімічні механізми ішемічного пошкодження кардіоміоцитів», «Сучасний стан фармакотерапії та кардіопротекції ішемічного пошкодження серця» та «Участь естрогенів у реалізації механізмів ендогенної цитопротекції в умовах гіпоксичного пошкодження серця. Перспективи застосування селективних модуляторів естрогенових рецепторів». Проаналізовано розвиток ендотеліальної дисфункції при гострому коронарному синдромі та узагальнено дослідження щодо механізму дії ендотеліальних факторів на судинний тонус, також відзначено, що причинами скорочення ГМК судин при кардіоваскулярній патології є підвищена генерація активних форм кисню (АФК), зміна активності NO-синтази, а також зниження синтезу NO або посилення його інактивації в умовах гіпоксії. Наведено дані щодо ролі в формуванні метаболічних змін за умов гострого інфаркту міокарда таких факторів як антиапоптичний bcl-2 і проапоптичні Вах-білки, що асоційовані із бензодіазепіновим рецептором, шаперони HSP70, маркери некрозу міокарда (сTnT, КК-MB і HSP70) та зв'язок між вмістом HSP70 в клітинах і стійкістю тканин до ішемії та реперфузії. Показано, що є багато даних щодо біологічних ефектів естрогенів, які не пов'язані з їх прямою гормональною дією, а саме цито- та кардіопротективних ефектів естрогенів та сприятливий вплив естрогенів на ліпідний профіль й ендотеліальну функцію.

Аналіз літературних джерел довів, що актуальним і перспективним напрямом у створенні нових цитопротективних препаратів, що застосовуються при гіпоксичному ураженні клітин, є пошук сполук, здатних індукувати фактори ендогенної цитопротекції (HSP-білки; HIF-білки, NO), а саме це естрогени. Модуляція функцій ряду клітин стінки судин і міокарда естрогенами здійснюється за допомогою геномних і негеномних ефектів через рецептори естрогенів. Геномні ефекти здійснюються за допомогою зв'язування зі специфічними ядерними естроген-рецепторами (ER), вони розвиваються через 12-24 години. Негеномні ефекти характеризуються швидким (секунди) розвитком і опосередковуються трансмембранними механізмами: активацією ферментів синтезу оксиду азоту або модуляцією іонних каналів. Однак впровадження в клініку естрогенів в якості кардіопротективних препаратів обмежується їх прямою гормональною активністю, а також неоднозначним впливом на систему згортання крові. У

зв'язку з цим, цікавим напрямком є застосування в якості агоністів естрогенових рецепторів так званих селективних модуляторів естрогенових рецепторів (SERM) — хімічних сполук, які мають вибірковий як естроген-агоністичний, так і естроген-антагоністичний вплив на різні органи і тканини, що залежить від дози і типу ЕР-рецепторів. Унікальність фармакології SERM може бути пояснена декількома взаємодіючими механізмами, тому перспективним напрямком є вивчення цитопротекторних властивостей SERM в умовах гіпоксичного порушення серця.

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень» представлений характеристиками об'єктів та предметів дослідження, характеристики лабораторних тварин та переліку використаних засобів та методів дослідження. В досліді *in vitro* були використані селективні модулятори естрогенових рецепторів тамоксифену цитрат (tamoxifen citrate, рег.№EF3300), тореміфен (toremifene, рег.№1705834), лівіал (livial, рег.№38006) та референс-препарат естрадіолу валеріат (estradiol valerate, рег.№52093D), а в досліді *in vivo* — препарати селективних модуляторів естрогенових рецепторів тамоксифену цитрат, тореміфен та референс-препарати тіотриазолін (thiotriazolin, рег.№11117), який нині є універсальним антиоксидантом, та капікор (capicor, рег.№11114), який, згідно з його фармакологічними властивостями, доцільно застосовувати в гострому періоді інфаркта міокарда. Перший етап *in vitro* — гіпоксію *in vitro* моделювали шляхом внесення в суспензію кардіоміоцитів розрізнявача тканинного дихання -1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридин-1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридил (МФП) у концентрації 0,6 мкМ. Другий етап *in vivo* — гострий інфаркт міокарда моделювали шляхом введення впродовж 4 діб коронароспазмуючого агенту — вазопресину (1 од/кг підшкірно) та $\beta_{1,2,3}$ -адреноміметика ізопреналіну (200 мг/кг внутрішньом'язово).

Ефективність обраних препаратів та механізми їх дії вивчалися в експериментах на статтевозрілих білих безпородних щурах обох статей в центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ та ЦНДЛ Запорізького державного медичного університету, сертифікованих Державним експертним центром МОЗ України.

Дисертант в своїх експериментах використала дуже широкий набір експериментальних підходів для вирішення поставленої мети, яку вона сформулювала наступним чином: «експериментально обґрунтувати доцільність використання селективних модуляторів естрогенових рецепторів у якості кардіопротекторних лікарських засобів в умовах експериментального інфаркту міокарда». Для її виконання були поставлені та вирішені 5 основних завдань.

Наявність інфаркту міокарда підтверджували підвищенням маркерів пошкодження кардіоміоцитів МВ-КФК, Тропоніну I та ЕКГ- змінами. Вплив препаратів в умовах ГІМ на систему згортання крові оцінювали за визначенням агрегаційної здатності тромбоцитів, протромбінового індексу та МНО.

Основними в роботі вибрані методи дослідження кардіопротекторних властивостей SERM, яку вивчали за станом антиоксидантної системи, енергетичного метаболізму, вмістом та експресією HSP-70 білків та eNOS, концентрацією ST-2 маркера та морфологічними змінами кардіоміоцитів. Ефективні дози препаратів, які досліджувались на моделі гострого інфаркту міокарда обчислювались за допомогою ядерної оцінки регресії з використанням 3D-моделі. Вплив препаратів в умовах ГІМ на систему згортання крові оцінювали за визначенням агрегаційної здатності тромбоцитів, протромбінового індексу та МНО.

За допомогою імуноферментного аналізу визначали концентрацію у гомогенаті серця нітротирозину, гомоцистеїну, eNOS та HSP-70-білків, у плазмі крові – тропоніну, ST-2-маркера. Із застосуванням спектрофотометричних та хроматографічних методів дослідження визначали рівень активності каталази, супероксиддисмутази, глутатіонредуктази, цитохром-С-оксидази, малатдегідрогенази, креатинфосфокінази та концентрацію АТФ, АДФ, АМФ і лактату, пірувату, малату, ізоцитрату. За концентрацією АТФ, АДФ, АМФ обчислювали енергетичний заряд (ЕЗ), енергетичний потенціал (ЕП), термодинамічний контроль дихання (ТКД).

Дослідження морфологічної структури кардіоміоцитів у дослідах *in vitro* проводили електронно-мікроскопічним методом. Аналіз ЕКГ щурів з ГІМ проводився на комп'ютерному аналізаторі Cardio Com-2000plus (ХАІ Медика, Україна). В якості електрокардіографічного критерію ефективності протиішемічної дії препаратів використовувався метод ЕКГ-картування з розрахунком показників сумарного ступеня зміщення сегмента ST відносно ізолінії ($\Sigma_{\Delta}ST$). Статистичну обробку даних здійснювали з використанням стандартного пакету аналізу програми статистичної обробки результатів, версії «Microsoft Office Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 6.0».

Основний матеріал дисертації викладений в розділі «Результати власних досліджень», де автор послідовно представляє результати власних досліджень, їх оцінку, обговорення та проміжні висновки.

Розділ 3 присвячений результатам власних досліджень впливу препаратів, що досліджуються, на показники оксидативного стресу, енергетичного метаболізму та морфофункціональної структури у дослідах *in vitro*. Так, моделювання МФП-індукованої гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* призводило до розвитку в інкубаційному середовищі оксидативного стресу та стійкого енергодефіциту – на 120-ту хвилину гіпоксії у кардіоміоцитах відбувалась інтенсифікація процесів вільнорадикального окиснення, внаслідок чого реєструвалось накопичення цитотоксичних маркерів окисного стресу – НТЗ та ГЦ. На тлі цих процесів відбувався розвиток енергодефіциту, який проявлявся дисбалансом вмісту в клітинах макроергічних фосфатів, а саме вірогідним зменшенням концентрації АТФ та АДФ на тлі збільшення концентрації АМФ, а також компенсаторна активація гліколізу і порушення функціонування циклу Кребс в вигляді значного падіння вмісту піровіноградної кислоти і малату на тлі значного накопичення

концентрації лактату як «тупикового» продукту в енергетичному метаболізмі кардіоміоцитів.

Внесення до інкубаційного середовища SERM та естрадіола валеріату приводило до зменшення інтенсивності оксидативного стресу, що проявлялось зменшенням вмісту в суспензії кардіоміоцитів нітротирозину та гомоцистеїну, паралельно підвищувався рівень каталази та відновлювався енергетичний метаболізм клітини, що виражалось підвищенням ЕЗ, ЕП та ТКД, особливо на тлі внесення тамоксифену. Досліджувані препарати були односпрямовані та ідентичні за силою дії з естрадіолом валеріатом. Цитопротективна дія SERM також була підтверджена морфологічними дослідженнями. Так, на 120-ту хвилину гіпоксії *in vitro* кардіоміоцити вміщували багато органел, пошкоджених за вакуолярнолітичним типом. Таким чином, проведеними експериментальними дослідженнями була встановлена кардіопротекторна дія естрадіола валеріату та селективних модуляторів естрогенових рецепторів в умовах МФП-індукованої гіпоксії *in vitro*, яка проявлялась їх здатністю обмежувати розвиток оксидативного стресу та нормалізувати енергетичний обмін клітин.

Для подальших досліджень *in vivo*, в умовах моделювання гострого інфаркту міокарда, були відібрані модулятори естрогенових рецепторів тамоксифену цитрат і тореміфен. З метою вивчення кардіопротекторних властивостей селективних модуляторів естрогенових рецепторів у порівнянні з референс-препаратами в умовах гострого інфаркту міокарда були встановлені їх ефективні дози методом ядерної оцінки регресії, використовуючи 3D-моделі.

В умовах моделювання гострого інфаркту міокарда в дослідах *in vivo* проведено аналіз ЕКГ показників, показників маркерів пошкодження кардіоміоцитів, реологічних властивостей крові, маркерів оксидативного стресу, енергетичного метаболізму та вплив на HSP-70 білки, eNOS. Доведено, що курсове призначення дослідних препаратів у встановлених ефективних дозах проявилось їх здатністю зменшувати гіперферментемію серцевого ізоензиму креатинфосфокінази (МВ-КФК) та маркера пошкодження кардіоміоцитів Тропоніну І. Експериментальна терапія гострого інфаркту міокарда дослідними препаратами приводила до зниження ЧСС, зменшення відхилення ST від ізолінії, сприяло відновленню до контрольного рівня амплітуди зубця Т, що свідчить про їх протиішемічну дію.

Введення досліджуваних препаратів сприяло поліпшенню таких показників, як ступінь агрегації, час агрегації та кількість тромбоцитів, при цьому найбільш активним відносно нормалізації функціонального стану тромбоцитів був капікор. Таким чином, встановлено, що SERM в дозі 0,1 мг/кг не призводить до активації тромбоцитарно-судинного гемостазу в експериментальних тварин з ГІМ, а введення вказаних препаратів сприяє незначній нормалізації показників коагуляційного і судинно-тромбоцитарного гемостазу.

У досліджах *in vivo* біологічні ефекти досліджуваних SERM були односпрямованими з ефектами, які вони продемонстрували в досліджах *in vitro*. При моделюванні гострого інфаркту міокарда в тканинах серця тварин був зареєстрований розвиток оксидативного стресу, на тлі якого введення дослідних препаратів тамоксифена цитрату, тореміфену та референс-препаратів – тіотриазоліну та капікору, приводило до нормалізації показників антиоксидантної системи. Всі дослідні препарати зменшували концентрацію в гомогенаті серця нітротирозину та гомоцистеїну. Дія досліджуваних препаратів була односпрямована, однак, різного ступеня вираженості. Найбільш активними, за своїм впливом на показники оксидативного стресу, виявились селективні модулятори естрогенових рецепторів тореміфену цитрат і антиоксидантний референс-препарат – тіотриазолін. Завдяки вираженій антиоксидантній активності досліджувані препарати позитивно впливали на енергообмін, обмежуючи лактат ацидоз, покращуючи всі функціональні показники, найбільш активним виявився тореміфен.

В умовах ГІМ відбувалось порушення експресії та синтезу факторів ендогенної цитопротекції, таких як HSP-білків і eNOS, при цьому при дослідженні характеру експресії та синтезу HSP70 білків в кардіоміоцитах було зафіксовано різнонаправлений характер експресії та синтезу цього білка. Разом з тим, курсове призначення тамоксифена цитрату, тореміфену та капікору тваринам з ГІМ призводило до модулюючого ефекту відносно характеру експресії та синтезу HSP70-білка. Аналіз даних по експресивній активності mRNA HSP70 показав, що SERM і референс-препарат капікор здатні в умовах гіпоксії модулювати експресію HSP70. Тобто, в умовах ГІМ дослідні препарати не стимулювали і не підвищували експресію HSP70, а навпаки, викликали її нормалізацію.

Цікаві дані отримані при вивченні концентрації ST2 в плазмі крові тварин з експериментальною терапією інфаркту міокарда – SERM, а особливо тореміфен приводили до зниження ST2 в плазмі експериментальних тварин, що в свою чергу приводить до підвищення біодоступності IL33 і HSP білків. Паралельно встановлена здатність препаратів знижувати концентрацію ST2, а також здійснювати моделюючий вплив на HSP білки, що приводить до активації процесів швидкої клітинної адаптації в умовах гіпоксії, при цьому встановлені кардіопротективні ефекти SERM проявлялися їх здатністю збільшувати відсоток тварин, що вижили на 4 добу модельної патології.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що, на підставі проведених експериментальних досліджень обґрунтована кардіопротекторна та цитопротекторна дія селективних модуляторів естрогенових рецепторів та доведено, що їх механізм дії в умовах ГІМ обумовлений антиоксидантними властивостями та модулюючим впливом на експресію та синтез факторів ендогенної цитопротекції, таких як HSP 70-білок та eNOS.

Отримані дані є теоретичним обґрунтуванням перспективності застосування даної групи препаратів у якості кардіопротекторів гострого

періоду ІМ та пошуку нових високоефективних кардіо- та цитопротекторів серед селективних модуляторів естрогенових рецепторів.

Наукова новизна отриманих результатів. Поза сумнівом, ступінь новизни роботи високий, оскільки мова йде про зовсім нове експериментальне вирішення актуальної задачі сучасної фармакології, а саме пошуку нових високоефективних кардіопротекторних лікарських засобів, в дослідях *in vitro* та *in vivo* експериментально обґрунтовано використання селективних модуляторів естрогенових рецепторів в якості кардіопротекторів в умовах моделювання гострого інфаркту міокарда. Вперше в дослідях *in vitro* та *in vivo* були встановлені кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів. В умовах моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* вперше встановлена здатність SERM позитивно впливати на ультраструктурні зміни у цих клітинах. В умовах моделювання гіпоксії кардіоміоцитів *in vitro* та *in vivo* встановлені їх антиоксидантні та енерготропні властивості. Визначено, що в умовах гострого інфаркту міокарда SERM модулюючи впливають на експресію і концентрацію у кардіоміоцитах HSP-70-білків та eNOS.

В дисертаційній роботі вперше на моделі гострого інфаркту міокарда встановлена здатність SERM зменшувати вміст у плазмі крові маркерів пошкодження кардіоміоцитів (тропонін I, ST-2). Кардіопротективна дія в умовах гострого інфаркту міокарда проявлялась у здатності SERM підвищувати кількість тварин, які вижили на 4 добу інфаркту міокарда. Отримані дані стали теоретичним та експериментальним обґрунтуванням доцільності використання SERM у комплексному лікуванні гострого інфаркту міокарда.

Практичне значення отриманих результатів. Практична значущість роботи визначається тим, що вперше наведено експериментально-теоретичне узагальнення та розв'язання наукового завдання, що полягало в оцінці кардіопротекторних властивостей SERM в умовах моделювання гіпоксії *in vitro* та *in vivo*. Результати роботи дозволяють розширити уявлення щодо розвитку молекулярно-біохімічних змін кардіоміоцитів в умовах їх гіпоксичного пошкодження *in vitro* та *in vivo*. Встановлені кардіопротекторні ефекти SERM (тамоксифену цитрат, тореміфен, лівіал), які полягають в їх антиоксидантних та енерготропних властивостях; вони мають модулюючий вплив на експресію та концентрацію HSP-70-білків та eNOS, здатні зменшувати вміст маркерів пошкодження кардіоміоцитів. Отримані дані є теоретичним підґрунтям для подальшого поглибленого дослідження кардіопротективних властивостей та молекулярних механізмів дії SERM.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології медичних вузів.

Апробація результатів дисертації. Основні результати викладені та обговорені на наукових конференціях та засіданнях кафедри клінічної лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету, на чисельних симпозіумах та конференціях, а також на V Національній з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017) та ін. Загалом матеріали дисертації

доложені та обговорені на 8 з'їздах та конференціях, за результатами яких надруковані тези.

Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та відображають основні напрями в цій галузі. Вони викладені лаконічно, що свідчить про відповідні досягнення при розв'язанні поставлених завдань та мети роботи. В якісному і кількісному (5) характері і обсязі вони повністю відповідають матеріалу, опублікованому у фахових виданнях, викладеному в дисертації та авторефераті. Зроблені висновки характеризують основні досягнення, здобуті і викладені в дисертації.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту та оформлення. Дисертаційна робота виконана на високому сучасному рівні, дає привід для наукової дискусії. Назва дисертації повністю відповідає змісту. Висновки аргументовані і базуються на великій кількості експериментальних даних. В дисертаційній роботі та авторефераті суттєвих недоліків не виявлено. І дисертація і автореферат написані красиво, логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення. Рукопис дисертації та автореферат, на жаль, як і будь-яка інша робота, не позбавлені недоліків оформлення, зокрема наявності не зовсім чітких та вдалим речень (с. 7, 60, 158 і т.д.), стилістичних (с. 104 та ін.) і орфографічних помилок, які утруднюють сприйняття матеріалу, але ніяким чином не знижують загальну високу оцінку виконаної роботи. Інші зауваження зроблені в окремих розділах та на полях рукопису.

Зауваження:

1. Розділ 3-й є складним та об'ємним, тому доцільно розділити його на 3 окремих розділи у відповідності до існуючих підрозділів.

2. Використання лише одного рівня значущості (p) при статистичних розрахунках, при цьому в таблицях 3.1-3.9 та 3.11-3.19 наведено значення $p \leq 0,05$, а в таблиці 3.10 – $P_{ST} < 0,05$. Потрібно уніфікувати ці значення.

3. Відсутність нумерації приміток під таблицями 3.1-3.9 та 3.11-3.19.

4. Перенос даних про методики дослідження в розділ результатів власних досліджень.

5. Рисунок 3.4 наведений на двох сторінках без відповідних вказівок.

6. Повторення даних «Огляду літератури» в розділі «Обговорення даних дослідження».

7. Недостатня кількість використаних літературних джерел з глибиною пошуку до 5 років.

8. В роботі зустрічаються друкарські (ст. 33,37,40,51,70,79,100), стилістичні та орфографічні (ст. 56,104) помилки, не всі джерела літератури оформлені за правилами.

Ці зауваження і побажання не є принциповими, не впливають на загальну високу оцінку рецензованої роботи та загальну позитивну оцінку дисертації, а також не зменшують її високу наукову і практичну значимість.

Крім того, хотілося б почути точку зору дисертанта на питання, що виникли у процесі роботи з дисертацією:

1. Кардіопротекторні ефекти андрогенів були вперше показані в 1977 році професором Jaffe (1977), який першим запропонував лікувати міокардіальну ішемію у чоловіків за допомогою тестостерону. Згодом застосування тестостерону в кардіологічній практиці стало одним з напрямків в терапії різних коронарних порушень. Як Ви поясните це протиставлення доведеної кардіопротекції синтетичними аналогами тестостерону та заявленої в Вашій роботі подібної кардіопротекторної активності естрогенів та модуляторів естрогенових рецепторів?

2. Доведено, що чоловічі статеві гормони не володіють прямим доступом до судин, але активно залучаються до механізмів регуляції судинної стрес-реактивності за рахунок модуляції стресорної активації холінергічних і адренергічних впливів на ССС. Нормальний вміст андрогенів є необхідним для підтримки судинного гомеостазу, однак фармакологічне відновлення його рівня при гіпотестостеронемії при АГ не призводить до позитивних ефектів, що побічно підтверджує висновок про опосередкований вплив андрогенів на судини через процеси регуляції судинного тону. Отже, вплив андрогенів на судинний тонус є непрямим та опосередкованим. Чи можливо пояснити отримані Вами дані щодо кардіопротекторних властивостей селективних модуляторів естрогенових рецепторів також є непрямим та опосередкованим впливом на тонус судин.

3. Проведеними Вами експериментальними дослідженнями була встановлена аналогічна кардіопротекторна дія естрадіола валеріату та селективних модуляторів естрогенових рецепторів в умовах МФП-індукованої гіпоксії *in vitro*, яка проявлялась їх здатністю обмежувати розвиток оксидативного стресу та нормалізувати енергетичний обмін клітин. Чи є, на Ваш погляд, механізми кардіопротекції естрадіола валеріату та тамоксифену однаковими?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертація Левченко Катерини Віталіївни «Кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов експериментального інфаркту міокарда» являє собою закінчену наукову роботу, що виконана на хорошому методичному рівні із застосуванням сучасних методів на достатній кількості тварин.

Робота має наукову новизну, тому що присвячена дослідженню кардіопротективних властивостей селективних модуляторів естрогенових рецепторів в умовах експериментального інфаркту міокарда та механізмами їх формування. Робота володіє практичним значенням, тому що обґрунтовує раціональні підходи до кардіопротекції шляхом використання SERM у комплексному лікуванні гострого інфаркту міокарда.

Таким чином, за актуальністю проблеми, високим методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, їх вірогідністю, обґрунтованістю

висновків, ступенем опублікування та загальним науковим рівнем дисертаційна робота Левченко Катерини Віталіївни «Кардіопротективні властивості селективних модуляторів естрогенових рецепторів за умов експериментального інфаркту міокарда», що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, є самостійним, завершеним науковим експериментальним дослідженням і повністю відповідає вимогам п. 11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами), а її автор Левченко Катерина Віталіївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Професор кафедри
загальної фармації та безпеки ліків
Інституту підвищення кваліфікації
спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України
доктор медичних наук, професор

 Е.В. Супрун



Засвідчую
підписом
спеціаліста
