

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

**Йосипенка Владислава Романовича «Онтогенетичні особливості структур переднього гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду»,**  
представлену до захисту у разову спеціалізовану вчену раду БДМУ ДФ 76.600.031, що утворена згідно наказу в.о. ректора ЗВО Буковинського державного медичного університету №150 від 02.05.2022 на підставі рішення Вченої ради БДМУ № 9 від 28 квітня 2022 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

**1. Актуальність вибраної теми дисертації.** Преоптична ділянка гіпоталамуса давно, майже 100 років, визнана центром сну, уявлення про гіпоталамічну локацію якого вперше було запропоновано австрійським неврологом С. von Economo у роботі «*Sleep as a problem of localization*» (*J. Nerv. Ment. Dis.* 1930. 71, 249–259). Сучасний рівень наукових уявлень про преоптичну ділянку гіпоталамуса свідчить про її вирішальну роль у регуляції сну та поведінки, пов'язаної з розмноженням та батьківством, а також у нейрогенної регуляції агресії, хижацтва, харчування та регуляції температури тіла. Преоптична ділянка гіпоталамуса складається з 10-12 різних груп нейронів, сформованих у ядра та суб'ядра, але, на сьогодні, номенклатура її субрегіонів і ядер є неузгодженою: навіть два атласи мозку мишей, які використовуються найчастіше, а саме атласи від George Paxinos (*Paxinos, G., Keith, B. J., Franklin, M. A. Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. Amsterdam, 2012: Elsevier Science*) та Allen Brain Atlas (<http://atlas.brain-map.org>), відрізняються термінологією та поглядами на структурну організацію преоптичної ділянки гіпоталамуса. Незважаючи на ці складнощі, автор обрав за мету вивчення вентролатерального преоптичного, або бічного передзорового, ядра гіпоталамуса, нейрони якого синтезують низку регулюючих нейропептидів та нейромедіаторів, а також

демонструють різні моделі нервової активності залежно від станів пильності. Однак, відкритим залишається питання чия активність може посилювати або пригнічувати сон чи неспання, впливати на різні фази сну. Порушення сну є однією з сучасних медичних проблем, яка більш притаманна людям похилого віку. Патогенетично це пов'язують з втратою нейронів вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса, внаслідок чого збільшується час засинання та скорочується тривалість нічного сну зі зменшенням відчуття задоволення від сну. Особливості сучасного життя у працездатного населення часто призводять до появи десинхронозів, які хоч і не є хворобою у класичному уявленні, але створюють певний хворобливий стан, який потребує пошуків патологічно обґрунтованих методів його фармакологічної корекції.

Враховуючи вищенаведене, можна вважати, що дисертаційна робота Йосипенка Владислава Романовича на тему «Онтогенетичні особливості структур переднього гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду», яка присвячена з'ясуванню морфометричних, імуногістохімічних та субмікроскопічних характеристик вентролатерального преоптичного (бічного передзорового) ядра гіпоталамуса щурів різного віку в умовах модифікації добового ритму освітлення, та вивченні властивостей мелатоніну в експерименті, є, безсумнівно, актуальною науковою задачею, вирішення якої має теоретичну та практичну значущість.

**2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.** Дисертаційна робота Йосипенка В.Р. є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри медичної біології та генетики Буковинського державного медичного університету “Морфофункціональне і біохімічне обґрунтування дисфункцій нейросекреторних структур головного мозку й ендокринних залоз та гепаторенальної системи щурів при експериментальній патології, у віковому аспекті та шляхи її корекції” (шифр теми: 0119U101346 – фундаментальна). Автор дисертації був співвиконавцем фрагментів зазначеної науково-дослідної роботи.

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

Текст дисертації викладений в логічному порядку на високому науковому рівні. У дослідженні були поставлені зрозумілі цілі і задачі, які направлені на дослідження впливу зміни світлового режиму на структурний стан вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса щурів у онтогенезі та ін'єкції мелатоніну. Для кожної із задач було реалізовано адекватні дизайни досліджень – модель гіпофункції та гіперфункції шишкоподібної залози, підбір експериментальних груп тварин, процес збору і аналізу одержаних даних. Отримані результати оформлені у зрозумілий спосіб з вказанням статистичних методів обробки та статистичних достовірностей. З результатів дослідження випливає декілька гіпотез, які можуть бути задачами для продовження досліджень в даному полі.

Першим структурним елементом у рукописі є **“Анотація”** (стор. 2-17) українською та англійською мовами, яка відповідає основним положенням, щодо оформлення анотацій дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. Далі автор наводить список публікацій за темою дисертації.

У **“Вступі”** (стор. 21-29) здобувач аргументовано вказав на актуальність проведеного дослідження, сформулював мету та шість завдань дослідження; визначив об'єкт та предмет дослідження; обґрунтував обрані методи дослідження; довів наукову новизну і практичне значення отриманих результатів з їх впровадженням; навів відомості про апробацію результатів виконаної наукової роботи.

У **Розділі 1 “Огляд літератури”**, який викладений на 28-ми сторінках (стор. 30-57), автор аргументовано та послідовно наводить відомі дані наукової літератури щодо регуляції циклу сон-неспанья, участі вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса та мелатоніну у цій регуляції, організації вказаного ядра, а також наслідки порушення циклу. У чотирьох підрозділах детально подано: характеристику біологічних ритмів, де особливу увагу автор приділяє циркадіанним ритмам, їх регуляції та вплив на організм людини (підрозділ 1.1), структурну організацію вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса та його роль у регуляції сну (підрозділ 1.2), метаболізм мелатоніну

в організмі та механізм його дії (підрозділ 1.3) та можливі негативні наслідки порушення циклу сон-неспанья, зокрема через зміну режиму освітлення (підрозділ 1.4). Проведений автором аналіз, засвідчує його високу обізнаність у літературних даних щодо даної проблеми та вміння доступно узагальнити і подати матеріал. З огляду літератури впливають ті недостатньо вивчені питання, які дисертант виніс як завдання свого дослідження.

У **Розділі 2 “Матеріал і методи”** (стор. 58-66) автор подає характеристику об’єктам дослідження, опис задіяних для досягнення мети і вирішення поставлених завдань методів морфологічного дослідження, а також розподіл тварин за віком та серіями експерименту. Даний розділ проілюстровано таблицею та 1 рисунком. Усі методи дослідження, що автор наводить у Розділі 2 рукопису дисертації вдало поєднані між собою та відповідають поставленим меті й завданням.

Отримані дані дослідження автор перевіряв на достовірність загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Результати вважав статистично достовірними тоді, коли отриманий рівень достовірності був меншим від прийнятого рівня, тобто  $p < 0,05$ .

Розділи 3-6 (стор. 67-157) містять логічне та послідовне викладення отриманих здобувачем власних результатів дослідження відповідно до поставлених мети та завдань дослідження. Всі розділи власних досліджень проілюстровано за допомогою різного роду діаграм та графіків, для кращого сприйняття матеріалу.

**Розділ 3** рукопису дисертації (стор. 67-85), представлений на 19 сторінках та побудований із 2 підрозділів. Підрозділ 3.1 присвячений гістологічній та морфометричній характеристиці вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів за різної тривалості фотоперіоду та експериментальної терапії мелатоніном. У підрозділі 3.2 автор висвітлює результати гістохімічного дослідження тигроїдної субстанції нейронів вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів, як відповідь на зміну режиму освітлення та уведення мелатоніну. Розділ містить 8

таблиць, 11 рисунків та завершується посиланнями на бібліографію праць здобувача, в яких опубліковано основні результати, що наведені у розділі.

На 32 сторінках (стор. 86-117) автором, у **Розділі 4**, описано вплив різної тривалості фотоперіоду на щільність мелатонінових рецепторів у нейронах вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів, а також позитивний вплив мелатоніну на стан вказаного ядра. Спочатку здобувач систематично наводить описові дані та результати кількісних показників із статистичною обробкою щодо мелатонінових рецепторів типу 1A в нейронах вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса, а потім – мелатонінових рецепторів типу 1B в цих же клітинах. Розділ 4 проілюстровано 8 таблицями та 34 рисунками. Завершується даний Розділ аргументованим підсумком та бібліографічним посиланням на фахові публікації автора.

У **Розділі 5** на 30 сторінках рукопису (стор. 118-147) представлено дані про концентрацію протеїнів у нейронах вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса у зрілих і старих щурів за стандартного і зміненого режиму освітлення та уведення мелатоніну (підрозділ 5.1); співвідношення між аміно- та карбоксильними групами у складі білків (коефіцієнт R/B) у нейронах вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса зрілих і старих щурів за модифікації фотоперіоду (підрозділ 5.2), що дає змогу оцінити інтенсивність процесів окиснювальної модифікації білків у нейронах вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса у відповідь на зміну режиму освітлення. Розділ містить 8 таблиць та 34 рисунків. Наприкінці Розділ 5 теж містить аргументований підсумок та перелік публікацій, в яких здобувач оприлюднив фрагменти дослідження.

**Розділ 6** рукопису дисертації (стор. 148-157) присвячено ультрамікроскопічній характеристиці перебудов архітекtonіки нейронів вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса старих щурів за різної тривалості фотоперіоду та уведення мелатоніну. Матеріал Розділу проілюстровано 8 високоякісними рисунками. Розділ завершується аргументованим підсумком та бібліографічним посиланням на публікації за участі

автора.

У Розділі 7 «**Аналіз і узагальнення результатів дослідження**» (стор. 158-173) автор проводить ґрунтовний аналіз і узагальнення отриманих результатів дослідження з результатами інших дослідників, вдало порівнює свої результати з їхніми даними, що свідчить про обізнаність здобувача в питаннях наукового дослідження.

**Висновки** у кількості 6 (стор. 174-176), які сформулював автор, логічно випливають з одержаних результатів, науково обґрунтовані, відповідають меті та завданням дослідження, побудовані за змістом дисертації. Водночас, висновки достатньо широко висвітлені в наукових публікаціях здобувача.

**Бібліографічний список** використаних джерел (стор. 177-205) містить 242 джерела, яких 104 – кирилицею та 138 – латиницею. Бібліографічний опис використаних джерел оформлений за допомогою *Springer Vancouver Style*, що віднесений до рекомендованого переліку стилів з розміщенням їх у структурі рукопису дисертації відповідно “Вимог до оформлення дисертації”, затверджених наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 року.

Завершують рукопис **Додатки** до дисертації, які теж оформлені згідно наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 року і містять список публікацій здобувача за темою дисертації, відомості про апробацію результатів дисертації та 8 актів впровадження.

Кожен з розділів власних досліджень підкріплений публікаціями, де чітко визначений вклад здобувача – збір експериментальних даних, обробка, написання статей. Результати дослідження опубліковані в рецензованих журналах високого рівня та апробовані на українських і міжнародних науково-практичних конференціях і конгресах.

Науковий рівень даної дисертаційної роботи та підтверджуючих її публікацій відповідає високим критеріям ступеня доктора філософії.

**4. Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.** Дисертантом вперше розкрито особливості гістологічної та морфогістохімічної характеристики вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса за умов зміни режиму світлового дня та встановлено суттєве зниження морфофункціональної реактивності нейронів у старих за віком щурів.

Експериментально доведено порушення синтезу мелатонінових рецепторів типів 1A і 1B нейронами вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса старих щурів у нічний період, яке відбувається на тлі пригнічення синтезу нейронального білка.

Уперше встановлено інверсію добового ритму морфофункціональної активності нейронів вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса старих щурів у вигляді гальмування синтезу мелатонінових рецепторів 1A типу у нічний період за умов постійного освітлення, та практично повне усунення коригуючого ефекту екзогенного уведення терапевтичної дози мелатоніну.

Встановлено, що зміна добового режиму освітлення на депривацію світлового, або темного періоду викликає зміни в ультраструктурній організації нейронів вентролатерального преоптичного ядра гіпоталамуса, більш виражені у старих щурів, які частково усуваються уведенням терапевтичної дози мелатоніну.

За темою дисертації опубліковано 8 наукових статей у вітчизняних та іноземних наукових виданнях фахового спрямування, з яких 1 стаття входить у базу даних Scopus, та 18 тез доповідей у матеріалах вітчизняних і міжнародних наукових конференцій. Автором отримано 2 патенти України на корисну модель. Ці роботи повною мірою висвітлюють основні результати досліджень, є актуальними, містять наукову новизну і мають практичне значення. З урахуванням наведених задач дослідження слід вважати, що всі розділи дисертації Йосипенка В.Р. достатньо висвітлені у наукових працях.

**5. Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** В дисертаційній роботі Йосипенка В.Р. використано достатню кількість експериментального матеріалу -

дослідження виконано на 144 статевозрілих та 192 старих щурах-самцях. Результати даної наукової роботи отримані за допомогою комплексу сучасних патофізіологічних, нейроанатомічних, морфометричних, імунногістохімічних та електронно-мікроскопічних методів дослідження, статистичного опрацювання отриманих даних. Дисертація викладена на 222 сторінках комп'ютерного тексту (155 сторінок основного тексту) і складається із анотації (українською та англійською мовами), вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, 4 розділів з результатами власних досліджень, розділу з аналізом та узагальненням результатів досліджень, висновків, переліку використаних джерел та додатків. Отримані дані статистично опрацьовані та представлені у вигляді 25 таблиць та 88 рисунків, які повною мірою відображають об'єм проведених досліджень. Для інтерпретації результатів наукової роботи залучено достатню кількість літературних джерел (242 посилання). Наукові положення та висновки дисертації аргументовано впливають із фактичного матеріалу, є обґрунтованими узагальненнями, повністю відповідають меті та завданням дисертації.

#### **6. Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.**

Йосипенко В.Р. показав високий рівень наукового підходу до поставлених задач, глибоке розуміння проблематики, спроможність самостійно планувати та вирішувати наукові задачі. Дисертантом опановано хірургію експериментальних тварин, методи гістологічних досліджень, цифрову обробку та статистичний аналіз отриманих даних.

На основі даних проведеного дослідження Йосипенком В.Р. написано і подано до друку наукові статті у рецензовані журнали, а також презентацію результатів на профільних спеціалізованих наукових заходах. На основі вищевикладеного вважаю, що Йосипенко В.Р. оволодів методикою наукової діяльності в об'ємі достатньому для ступеня доктора філософії і є самостійною дослідником.



**7. Теоретичне значення результатів дослідження** полягає у тому, що автором розширено фундаментальні данні про організацію та особливості функціонування гіпоталамічних механізмів підтримки циркадного ритму за умов порушення світлового режиму. Отримані результати мають важливе значення для пізнання механізмів виникнення та розвитку розладів сну та десинхронозів за умов модифікації фотоперіоду у віковому аспекті.

**8. Практичне значення одержаних результатів** полягає у тому, що на підставі одержаних даних патогенетично обґрунтовано ефективність застосування мелатоніну при хронопатологічних явищах. Отримані результати можуть бути корисними при проведенні фундаментальних і прикладних науково-дослідних робіт з вивчення механізмів десинхронозів за умов модифікації фотоперіоду та пошуку способів їх корекції. Наукові розробки автора впроваджено у навчальний процес і наукову роботу кафедр 8-ми вищих навчальних закладів медичної освіти, є важливими та актуальними при викладанні курсів анатомії та фізіології для студентів медичних освітніх закладів.

**9. Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці.** Матеріали дисертаційної роботи рекомендується використовувати під час викладання вікової анатомії та фізіології у закладах вищої медичної освіти, враховувати у науково-дослідних роботах по хронобіології та хронофізіології. Використання сучасних методик, новизна матеріалу та висока якість ілюстративного матеріалу, дають підстави для використання матеріалів дисертації при написанні монографій, підручників та навчальних посібників з відповідної тематики.

**10. Зауваження і побажання до дисертації щодо її змісту та оформлення.** Дисертація Йосипенка В.Р. викликає позитивне враження, але не позбавлена деяких зауважень, а саме:

1) Оскільки дисертація виконана за спеціальністю нормальна анатомія, то було б доцільним представити топографічну карту-схему гіпоталамуса із зазначенням структур, що формують преоптичну ділянку гіпоталамуса;

2) У таблицях, або у розділі 2 доцільно було б навести кількість виміряних нейронів у кожній серії досліджень;

3) Автор використовував денситометричні виміри у R- та В-каналах 8-бітного кольорового зображення нейронів БПЯ при фарбуванні за Mikel Calvo. В даному випадку бажано було б навести монохромні варіанти отриманих зображень в кожному каналі, а не лише кольорові мікрофотографії.

Ці зауваження суттєво не впливають на якість наукового дослідження, але їх врахування сприяло б більш якісному сприйняттю матеріалів дисертації. Крім цього, бажано було б знати думку автора щодо наступних питань дискусійного характеру, а саме:

1) Чи здійснюється експресія рецепторів до мелатоніну 1А та 1В типів на одних і тих же нейронах, чи це різні популяції нейронів БПЯ? До того ж, як Ви вважаєте, чи усі нейрони БПЯ експресують рецептори до мелатоніну і який відсоток мелатонін-позитивних клітин серед популяції нейронів БПЯ?

2) Чим Ви можете пояснити збільшення концентрації білка на +15 – 17% (табл. 5.1, 5.3) у нейронах БПЯ зрілих щурів при тижневої світлової стимуляції, порівняно з контрольними тваринами, за умов відсутності змін у об'ємі нейронів (табл. 3.1, 3.3) та на тлі суттєвого зменшення експресії клітинних рецепторів до мелатоніну 1А типу (табл. 4.1, 4.3) і 1В типу (табл. 4.5, 4.7).

3) Яке структурно-функціональне значення, на думку автора, має врахування співвідношення між карбоксильними та аміногрупами білків у нейронах за умов експериментальної патології?

**11. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.** Підчас ознайомлення з матеріалами дисертації та аналізу наукових публікацій здобувача фактів академічного плагіату не виявлено. Тестування оригінальності авторського тексту дисертаційної роботи було проведено за допомогою програмного забезпечення «Antiplagiarism» (рівень оригінальності – 97%). Наявності порушень академічної доброчесності в дисертаційному дослідженні Йосипенка В.Р. не виявлено.

## 12. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Кваліфікаційна робота Йосипенка Владислава Романовича подана на здобуття ступеня доктора філософії «Онтогенетичні особливості структур переднього гіпоталамуса щурів за модифікації фотоперіоду» з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» є самостійною науковою працею, що вирішує актуальну експериментальну задачу, за результатами якої написані й опубліковані статті в реферованих журналах. Робота була представлена на наукових конференціях і конгресах.

Робота за науковим рівнем, рівнем виконання, обсягом проведених досліджень, новизною отриманих результатів відповідає всім вимогам, що відповідають наказу МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. № 40 та 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, а її автор – Йосипенко Владислав Романович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент  
професор кафедри патологічної фізіології  
з курсом нормальної фізіології  
Запорізького державного медичного  
університету МОЗ України  
доктор медичних наук, професор



Офіційний відпис  
ПІДТВЕРДЖУЮ  
відділу кадрів Запорізького  
державного медичного університету  
30.05.2022 р. Підпис *А.А.А.*  
О.В. Давидів