

ВІДГУК

офіційного опонента – доцента кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного медичного університету імені І. Я.
Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, кандидата біологічних
наук, доцента **Довгалиук Аліни Іванівни** на дисертаційну роботу
**Полив'яної Олександри Анатоліївни «МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА
ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ ЦЕНТРАЛЬНІЙ
ДЕПРИВАЦІЇ ТЕСТОСТЕРОНУ»**, подану до захисту у спеціалізовану вчену
раду при Полтавському державному медичному університеті Міністерства
охорони здоров'я України на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань
22 – Охорона здоров'я за спеціальністю 222 – Медицина

Актуальність теми дисертації.

Одним з найбільших медичних викликів сьогодення є рак передміхурової залози. Це захворювання належить до найпоширеніших онкологічних патологій у чоловіків у всьому світі, зокрема й в Україні, і через безсимптомний перебіг на початку часто діагностується вже на пізніх стадіях, становлячи серйозну загрозу для чоловічого здоров'я. Серед низки терапевтичних підходів, таких як гормональна терапія, променева терапія, хірургія та інноваційна таргетна терапія, одним з найпоширеніших нині методів лікування злоякісних новоутворень простати є хімічна кастрація за допомогою андрогенодеприваційних препаратів, оскільки відомо, що такі пухлини є тестостеронзалежними. Рекомендований до застосування Європейською асоціацією урологів трипторелін є агоністом гонадоліберину (гонадотропін-рилізінг гормону) і є одним з основних лікарських засобів для лікування таких гормонозалежних онкологічних патологій. Однак блокування синтезу тестостерону впливатиме не лише на репродуктивну систему, а й на метаболізм в цілому, м'язову масу, щільність кісток та органів жовчо-видільної системи тощо. Баланс рівня тестостерону в організмі чоловіків є ключовим для нормального функціонування: і низькі, і надмірні концентрації можуть критично впливати на роботу різних органів та систем. Оскільки печінка є тим органом, що активно бере участь у метаболізмі гормонів, зниження рівня тестостерону здатне призвести до розвитку гепатоцелюлярного стресу.

Тому доклінічні дослідження впливу депривації тестостерону на структурні компоненти паренхіми і строми печінки та вивчення коригуючих ефектів біофлавоноїду кверцетину дозволять глибше зрозуміти патофізіологічні процеси та патоморфологічні зміни гепатобіліарної системи пацієнтів з раком передміхурової залози, та допоможуть підібрати оптимальне гепатопротекторне лікування.

Абсолютна необхідність міждисциплінарного підходу для покращення стратегій лікування онкохворих стає все більш очевидною, тому актуальність подібних досліджень не підлягає сумніву.

Оцінка наукового рівня дисертації та наукових публікацій здобувачки.

Дисертаційна робота Полив'яної Олександри Анатоліївни виконана відповідно до плану наукових досліджень Полтавського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної теми: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», (№ держреєстрації 0119U102925), а дисертантка є співвиконавицею вказаної науково-дослідної роботи.

Робота виконана на належному науково-методичному рівні. Використані авторкою сучасні методи дослідження дозволяють вирішити поставлені завдання, а статистична обробка отриманих даних забезпечила достовірність сформульованих висновків. Наукові положення роботи, висновки та практичні рекомендації обґрунтовані та відповідають меті і завданням дослідження.

За темою дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 5 статей у фахових наукових виданнях України (1 робота у науковому виданні, що індексується у наукометричній базі Scopus, 2 – у журналі, що індексуються у Web of Science), та 7 публікацій у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій чи конгресів.

Новизна представлених теоретичних та експериментальних результатів досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

У дисертаційній роботі вперше на великому експериментальному матеріалі із застосуванням комплексу мікроскопічного, спектрофотометричного, імуногістохімічного та статистичного методів дослідження встановлено особливості морфогенезу гепатоцитів при дисгормональному стані “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–печінка”, викликаного введенням триптореліну. Показано, що депривація тестостерону призводить до зростання кількості двоядерцевих та двоядерних клітин на всіх термінах експерименту з застосуванням триптореліну, а одночасне введення кверцетину пом’якшує негативний вплив даного препарату на паренхіму печінки.

Вперше показано, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність гепатоцитів, що вказує на ефективність його коригуючого впливу у даній експериментальній моделі.

Доведено, що блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном зумовлює розвиток оксидативного стресу в печінці щурів внаслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту. Застосування кверцетину зменшило ознаки оксидативного стресу гепатоцитів.

В опублікованих працях О.А. Полив’яної знайшли відображення всі основні положення даної дисертаційної роботи, які свідчать про повноту викладу отриманих даних та висновків, сформульованих у дисертації та достатній рівень їхнього оприлюднення.

Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висвітлених в даній роботі, підтверджується достатнім обсягом досліджуваного матеріалу (60 білих лабораторних щурів), великим об’ємом виконаних досліджень, правильним вибором сучасних методологічних підходів та проведеній статистичній обробці отриманих даних. Результати дисертаційної роботи ілюстровано якісними

мікрофотографіями, зробленими із напівтонких зрізів зразків печінки. Крім того у роботі наведені таблиці та діаграми із статистично обробленим цифровим матеріалом, що вказує на доказовість проведення досліджень, полегшує сприйняття матеріалу, підкреслює високу обґрунтованість дисертаційних положень. Висновки дисертаційної роботи є логічними, базуються на основних положеннях дослідження та відповідають поставленим завданням.

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

Дисертантка демонструє високий рівень наукового підходу до дослідження, уміння вирішувати поставлені наукові завдання. За допомогою адекватно підібраних методів дослідження (експериментального, гістологічного, імуногістохімічного, спектрофотометричного і статистичного) здобувачка отримала дані, що є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної експрес-діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин цього органа при патологічних процесах та дають змогу оптимального підбору терапевтичних стратегій.

Тому вважаю, що поставлені наукові завдання авторкою виконані на високому методологічному рівні, а Полив'яна Олександра Анатоліївна оволоділа компетентностями дослідника, необхідними для рівня доктора філософії.

Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Отримані нові наукові дані щодо ефективного застосування біофлавоноїду кверцетину для корекції гіпоксичного ураження печінки при дисгормональному розладі, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи змодельованої патології без корекції. Отримані результати визначають важливість вивчення як структурної організації паренхіми печінки (визначення рівня плоїдності гепатоцитів та вивлення порушень у компонентах гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР)) так і біохімічних показників розвитку оксидативного стресу в

клітинах для з'ясування гепатотоксичного ефекту препаратів, що використовуються при стандартному лікуванні онкохворих з раком передміхурової залози. Поглиблене розуміння механізмів розвитку гепатоцелюлярного стресу дозволить клініцистам підбирати оптимальний для кожного пацієнта комплекс терапевтичних засобів, по-максимуму уникаючи побічних ефектів. Основні положення та висновки дисертаційного дослідження впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу на кафедрах гістології, цитології та ембріології, кафедрі анатомії вищих навчальних закладів України.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

Дисертаційна робота Полив'яної Олександри Анатоліївни викладена українською мовою і має структуру у відповідності до сучасних вимог. Належний обсяг експериментальних досліджень та підібрані сучасні методи аналізу даних дозволили досягти поставленої мети та вирішити завдання дисертації. Проведені дослідження схвалені комісією з питань біологічної етики Української медичної стоматологічної академії (№ 179 від 28.01.2020 року). Дисертація викладена на 185 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: Анотації українською й англійською мовами, Вступ, Огляд літератури, Матеріали та методи, 3 розділи Результатів власних досліджень, Аналіз та узагальнення отриманих даних, Висновки, Практичні рекомендації, Список використаних джерел, Додатки. Робота проілюстрована 58 рисунками (із них 29 мікрофотографій, 8 таблиць, 12 графіків, 7 діаграм та 2 схеми: патогенезу уражень печінки та коригуючого впливу кверцетину).

В Анотаціях» поданих українською та англійською мовами стисло наведені основні положення дисертаційної роботи.

У «Вступі» авторка логічно обґрунтовує актуальність теми наукової роботи та необхідність вирішення задач – встановити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки та гепатоцитів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном; визначити закономірності реакції ланок

ГМЦР печінки та з'ясувати морфологічну перебудову в організації гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину; з'ясувати вплив пригнічення тестостерону на активність каспази-3 в тканинах печінки при довготривалому блокуванні релізінг-гормону у щурів самців на тлі введення кверцетину; дослідити розвиток оксидативного ушкодження тканин печінки за умов введення триптореліну та при корекції патологічного стану кверцетином. У даному розділі чітко визначені мета і завдання дослідження, вказана наукова новизна та практична цінність дисертаційної роботи, представлені матеріали апробації та публікації.

У першому розділі «Огляд літератури» авторка проводить детальний аналіз вітчизняних та зарубіжних літературних першоджерел щодо сучасного стану досліджень структурних компонентів гепатоцитів у нормі, при депривації синтезу тестостерону та при введенні кверцетину.

В другому розділі «Матеріали і методи досліджень» дисертантка описує об'єкт дослідження, схему експериментів та методи аналізу отриманого матеріалу для досягнення поставлених завдань. Матеріалом для дослідження були тканини печінки тварин інтактної та експериментальних груп. Дослідження проведені на лабораторних статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар. Зазначено дотримання основних вимог біоетичного поводження з тваринами під час проведених експериментів.

У третьому розділі «Структурна організація ГМЦР печінки та перебудова гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном» представлені результати власних дослідження які відображають моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном, що призводить до значних морфологічних змін у структурі печінки, що проявляється порушенням судинної організації, зміні кількісного співвідношення між однадерцевими та двоядерцевими та двоядерними гепатоцитами, що проявляється підвищеною кількістю двоядерних гепатоцитів у

полі зору, змінами об'єму цитоплазми та ядер клітин. Розділ ілюстрований високоінформативними мікрофотографіями.

У четвертому розділі «Морфологічні і метричні зміни в організації ГМЦР печінки та перебудови гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину» з'ясовано поступове збільшення діаметру артеріол, венул та синусоїдних капілярів, що свідчить про зміни у структурі мікроциркуляторного русла у групі тварин з одночасним введенням триптореліну та кверцетину. Показно збільшення кількості двоядерних і двоядерцевих гепатоцитів, що може свідчити про активізацію регенеративних процесів у печінці. Виявлено зміни у розмірах ядер та об'ємі цитоплазми гепатоцитів, що може вказувати на активацію адаптаційних механізмів у клітинах у відповідь на оксидативний стрес. Упродовж експерименту спостерігалася тенденція до збільшення загального об'єму цитоплазми гепатоцитів, що може бути пов'язано з компенсаторними процесами та збільшенням функціонального навантаження. Зміни у структурі печінкових часточок, кровоносних судин та жовчних проток свідчать про довготривалі наслідки експериментальної блокади лютеїнізуючого гормону. Зміни в судинах печінки, зокрема розширення вен і синусоїдних капілярів, можуть свідчити про порушення венозного відтоку та кровонаповнення. Довготривала дія триптореліну та кверцетину спричиняє гіперплазію сполучної тканини, що може вказувати на початкові стадії фіброзу печінки. Отримані результати можуть бути основою для подальших досліджень механізмів впливу триптореліну та кверцетину на морфофункціональний стан печінки та інших органів, а також оцінки їх можливих клінічних наслідків.

У п'ятому розділі «Вплив блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину на зміни в активності каспази-3 в танині печінки щурів» показано, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність гепатоцитів, засвідчуючи його потенційний гепатопротекторний ефект.

У шостому розділі «Біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та її корекції кверцетином» з'ясовано, що блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном від 1 до 12 місяців призводить до розвитку оксидативного ушкодження тканин печінки щурів на всіх досліджуваних термінах за рахунок посилення продукції активних форм кисню та зниження антиоксидантного захисту. Застосування водорозчинної форми кверцетину за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном є ефективним засобом для корекції оксидативного ушкодження тканин печінки за рахунок зменшення утворення активних форм кисню та посилення антиоксидантного захисту.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів дослідження», дисертантка проводить аналіз отриманих результатів у вигляді порівняння основних етапів виконаних досліджень. У цьому розділі наведені основні положення роботи, отримані дані співставленні з відомостями з літературних джерел. Робота закінчується п'ятьма висновками, які відповідають завданням дослідження, відображають основні результати дисертаційної роботи і ґрунтуються на отриманому авторкою фактичному матеріалі.

Список використаних джерел включає 211 найменувань україномовних та англomовних праць, на які є посилання у тексті дисертації.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.

Зміст дисертації відповідає темі дослідження і розкриває її суть.

Дисертаційна робота написана українською мовою, оформлена згідно існуючих вимог. Оцінюючи дисертаційну роботу Полив'яної Олександри Анатоліївни загалом позитивно, слід відмітити деякі недоліки і побажання:

- в анотаціях та й далі по тексту не завжди розшифровується наведена аббревіатура (наприклад, ГМЦР на стор. 4, PUFA на стор. 144 тощо);

- в англomовній анотації неправильно вказано умовне скорочення prostate cancer (RPZ) на стор. 8 і далі;
- Список умовних скорочень містить не повний перелік використаних аббревіатур; ПОЛ, ГПР-4 (стор. 144);
- неправильно вказана кількість сторінок дисертації та ілюстрацій у пунктах «Структура та обсяг дисертації» на стор. 7 та 34;
- У Змісті Розділ 4 подано під іншою назвою, ніж фактичний (стор. 18 та 87).

Крім того виявлена низка орфографічних, пунктуаційних та стилістичних помилок, однак вони не зменшують наукової цінності виконаної роботи.

При аналізі тексту дисертації виникло декілька запитань, переважно дискусійного характеру, на які хотілося б почути відповідь дисертантки:

1. Про що свідчить, на вашу думку, зміни у співвідношенні кількості одноподерцевих, двоподерних і двоподерцевих гепатоцитів у печінці в обох експериментальних групах тварин?
2. Чому ви обрали для імуногістохімічного дослідження саме маркери каспази-3?

Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи.

Вважаю, що дисертаційна робота «Морфoфункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації тестостерону», подана на здобуття ступеня доктора філософії, є завершеною науковою працею, що виконана дисертантом особисто, має значну наукову новизну, теоретичне та практичне значення. Здобувачка досягнула мети дослідження, виконала всі окреслені завдання та зробила відповідні висновки. Основні наукові результати проведеного дослідження висвітлені в достатній кількості наукових публікацій, які повністю розкривають зміст дисертації. Тому дисертаційна робота Полив'яної Олександрії Анатоліївни «Морфoфункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації тестостерону» за актуальністю обраної теми, методичним рівнем виконання, науковою новизною, теоретичним

та практичним значенням отриманих результатів для медицини повністю відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44, актуальним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом № 40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. (редакція від 12.07.2019р.), а її автор заслуговує на присудження ступеня доктор філософії за спеціальністю 222 Медицина.

Офіційний опонент:

доцент кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України,
кандидат біологічних наук, доцента

Аліна Довгалюк



Особистий підпис

завіряю

Заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету