

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 Довгалюк Аліни Іванівни на дисертаційну роботу Рудь Марії Володимирівни «МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ В НОРМІ ТА ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ БЛОКУВАННІ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ У ЩУРІВ», 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.

З огляду на глобальні тенденції, онкологічні захворювання зберігають статус провідної причини інвалідизації та смертності у світі. За прогнозами Міжнародного агентства з дослідження раку (Варсі/IARC) до 2050 року очікується стрімке зростання кількості нових випадків неоплазій порівняно з показниками 2022 року. У структурі онкопатології вагоме місце посідає рак передміхурової залози, на який у 2022 році припадало 7,3% усіх випадків (зафіксовано у близько 1,5 млн осіб).

Через особливості перебігу та, часто, безсимптомний перебіг на ранніх етапах, діагностика зазвичай виявляє патологію на більш пізніх стадіях, що впливає на прогноз та перспективи успішного лікування. Серед методів, що використовуються, провідне місце займає використання андрогендеприваційної терапії, оскільки відомо, що такі пухлини є

тестостеронзалежними. Трипторелін, рекомендований до застосування Європейською асоціацією урологів, належить до групи агоністів гонадоліберину і широко застосовується у схемах лікування гормонозалежних онкологічних патологій передміхурової залози. Блокування синтезу тестостерону має вплив не лише на репродуктивну систему, а й на загальні процеси метаболізму, стан м'язової тканини, щільність кісток, когнітивні процеси тощо. Оскільки метаболічні перетворення гормонів відбуваються переважно у печінці, а окрім того, відомо про наявність андрогенних рецепторів на гепатоцитах безпосередньо, зниження рівня тестостерону здатне призвести до розвитку порушення функціонування органа, з одночасним залученням імунокомпетентних клітин для формування відповідної імунної відповіді.

Доклінічне вивчення впливу депривації тестостерону на імунокомпетентні клітини печінки та дослідження коригуючих ефектів біофлавоноїду кверцетину дає можливість сформулювати розуміння патофізіологічних механізмів та патоморфологічних змін у печінці пацієнтів з онкопатологією передміхурової залози, та дозволить прогностично передбачити і обрати варіанти оптимального гепатопротекторного лікування.

Міждисциплінарне бачення у покращенні стратегій лікування онкохворих є все більш очевидним, тому актуальність досліджень подібного напрямку не підлягає сумніву.

Оцінка наукового рівня дисертації та наукових публікацій здобувачки.

Дисертаційна робота Рудь Марії Володимирівни виконана відповідно до плану наукових досліджень Полтавського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідних тем: «Експериментально-

морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925, роки виконання 2019-2023 та «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріоплацентарного комплексу (ЕПК), дифереліну та кверцетину на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № держреєстрації 0124U003358, роки виконання 2024-2028, а здобувачка є співвиконавицею вказаних науково-дослідних робіт.

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 15 робіт, із них 6 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 9 публікацій у збірниках матеріалів вітчизняних та міжнародних конференцій.

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

У дисертаційній роботі здобувачки на достатньому експериментальному матеріалі із застосуванням комплексу мікроскопічного, морфометричного, імуногістохімічного та статистичного методів дослідження встановлено морфофункціональні характеристики імунокомпетентних клітин печінки при сформованому дисгормональному

стані у системі “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–печінка”, викликаному введенням триптореліну та його корекції кверцетином.

Найбільш вираженою реакцією було достовірне й тривале зростання кількості макрофагів у всі терміни експериментального спостереження, що свідчить про активацію макрофагальної ланки місцевого імунного захисту та розвиток хронічної імунної відповіді. Зміни кількості клітин Іто та лімфоцитів мали хвилеподібний характер.

Визначено, що блокування синтезу лютеїнізуючого гормону викликає ранню активацію загальної популяції макрофагів. Максимальний пік експресії CD68+ припадає на 90-ту добу (зростання у 5,25 рази), що вказує на інтенсивну фазу фагоцитарної активності та первинну відповідь на пошкодження печінки. Друга хвиля зростання на 365 добу свідчить про перехід процесу у хронічну форму з повторною активацією M1-клітин.

Встановлено здатність кверцетину коригувати інтенсивність імунної відповіді через індукцію поляризації макрофагів у протизапальний M2-фенотип. Підвищений рівень маркерів M2-клітин CD163+ на пізніх термінах свідчить про стимуляцію захисних резервів печінки, що нівелює негативні наслідки застосування триптореліну.

Показано, що фармакологічна блокада синтезу лютеїнізуючого гормону шляхом введення триптореліну спричиняє розвиток нітрозативного стресу в печінці щурів, який характеризується порушенням співвідношення iNOS/ARG, та може слугувати підтвердженням переважання прозапальних M1-макрофагів у тканинах печінки на тлі гормонального дисбалансу з максимумом на останніх термінах експерименту.

В опублікованих наукових працях здобувачки знайшли відображення всі основні положення цієї дисертаційної роботи, які свідчать про повноту оприлюднення отриманих даних та висновків, сформульованих у дисертації.

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

Обґрунтованість наукових положень, висвітлених у дисертаційній 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 проілюстровані якісними мікрофотографіями, зробленими із напівтонких зрізів зразків печінки. Окрім 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.

Здобувачка продемонструвала високий рівень наукового підходу до дослідження, уміння вирішувати поставлені наукові завдання. Використовуючи доцільні методи дослідження (експериментальний, гістологічний, морфометричний, імуногістохімічний, біохімічний та статистичний) здобувачка отримала дані, що можуть бути використані, як теоретична передумова для розробки алгоритму морфологічної експрес-діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин печінки за умов патологічних процесів.

Тому є очевидним, що Рудь Марія Володимирівна оволоділа методологією наукової діяльності та компетентностями дослідника, необхідними для отримання наукового ступеня доктора філософії.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

Дисертація викладена у вигляді рукопису, грамотною державною мовою, на 170 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: *анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків*. Перелік використаних джерел включає 196 найменувань, розміщених на 24 сторінках. Робота проілюстрована 32 рисунками, та 11 таблицями.

У *вступі* обґрунтовано актуальність теми, визначено мету та 4 завдання, окреслено об'єкт та предмет дослідження, наведено інформацію про наукову новизну та практичне значення роботи, зазначено особистий внесок здобувачки та інформацію щодо апробації результатів.

В *Огляді літератури* здобувачка провела детальний аналіз наукових джерел щодо сучасного стану досліджень імункомпетентних клітин печінки та їхньої ролі у підтримці гомеостазу органа в нормі, а також вплив фармакологічних препаратів, що викликають депривацію синтезу тестостерону та введення кверцетину на морфофункціональний стан низки органів та систем.

У *Матеріалах і методах досліджень* здобувачка описує експериментальну модель та методіку формування дослідних груп; деталізує методи дослідження та подає їхнє обґрунтування. Зазначено дотримання основних вимог біоетичного поводження з тваринами під час проведення

експериментів. Крім того, описано статистичні методики, використані під час опрацювання отриманих результатів дослідження.

У першому розділі результатів власних досліджень «Морфофункціональна характеристика імунокомпетентних клітин печінки в контрольній групі та при введенні триптореліну» наведені дані, які відображають вплив моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на кількісні та якісні характеристики імунокомпетентних клітин печінки. Розділ містить 12 інформативних мікрофотографій, що репрезентують гістологічні зміни на кожному етапі експерименту.

Наступний розділ «Морфофункціональна характеристика імунокомпетентних клітин печінки при введенні триптореліну і його корекції кверцетином» містить результати власних досліджень, що були отримані при використанні коригуючого чинника при змодельованій блокаді синтезу лютеїнізуючого гормону. Розділ проілюстрований 9 якісними мікрофотографіями, що відображають динамічні зміни імунокомпетентних клітин печінки у відповідь на корекцію індукованої патології кверцетином.

П'ятий розділ дисертаційної роботи «Аналіз експресії кількісних показників S100A9, CD68+ та CD163+ у тканинах печінки на різних етапах експерименту» містить інформацію, щодо отриманих результатів імуногістохімічних досліджень препаратів печінки тварин усіх експериментальних груп. Було показано динаміку змін поляризації макрофагів за M1-M2 фенотипом протягом усіх термінів, а також кількісне відображення наявності аларміну S100A9 у тканинах печінки.

У шостому розділі «Дослідження змін активності ферментних реакцій в печінці щурів у нормі та на різних етапах експерименту» було надано детальну інформацію про активність ферментів нітрозативного циклу в обох експериментальних групах на кожному етапі експерименту та їхнє значення

для підтвердження змін у поляризації макрофагів за M1-M2 фенотипом. Розділ містить 5 таблиць із статистично опрацьованою інформацією, яка доступна для аналізу і порівняння.

Сьомий розділ «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» містить аналітичне порівняння отриманих результатів на кожному етапі експерименту між двома дослідними групами. У цьому розділі наведені основні положення роботи, отримані дані порівнюються з відомостями, отриманими з наукових літературних джерел. Текст ілюстрований 6 інформативними гістограмами та 2 схемами про патогенез імунологічних змін у печінці при введенні триптореліну та коригуючий вплив кверцетину на ці показники.

Висновки містять 6 окремих розлогіх пунктів, що логічно впливають із результатів досліджень та відповідають поставленим завданням.

Практичні рекомендації достатньо конкретизовані та придатні до впровадження.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації, запитання до здобувача.

Оцінюючи дисертаційну роботу Рудь Марії Володимирівни загалом позитивно, варто відмітити деякі **недоліки**:

- у тексті трапляються деякі орфографічні та пунктуаційні помилки;
- не всі аббревіатури, що зустрічаються у розділах дисертації, винесені у перелік умовних скорочень на стор. 20;
- висновки викладено занадто розлого із елементами обговорення, формулювання окремих пунктів варто було б скоротити;

- значна частина цитованої літератури (50 найменувань) опублікована понад 15 років тому, є 9 посилань на роботи ще минулого століття.

Однак, наведені *зауваження не примениують цінності роботи, її важливе теоретичне і практичне значення і носять лише рекомендаційний характер.*

У ході опрацювання дисертації виникли **запитання**, на які хотілося б отримати відповіді:

1. У вашому дослідженні індекс поляризації макрофагів в експериментальній групі з введенням триптореліну і кверцетину на 365-ту добу знижується до 1,10. Чи не свідчить це про зниження ефективності препарату для корекції наприкінці року?

2. Як введення кверцетину впливає на механізм вивільнення алармінів S100A9 з імунних клітин?

Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота «Морфофункціональний стан імунокомпетентних клітин печінки в нормі та при довготривалому блокуванні синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у щурів», подана на здобуття ступеня доктора філософії, є завершеною науковою працею, що виконана здобувачкою особисто, має значну наукову новизну, теоретичне та практичне значення. Дисертантка 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.

За актуальністю, методологією, науковою новизною та практичним значенням дисертація Рудь Марії Володимирівни відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії» та наказу МОН України від 12 січня 2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій», а здобувачка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент

доцент кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
кандидат біологічних наук, доцент

Аліна ДОВГАЛЮК