

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, професора кафедри гістології Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова МОЗ України Гунаса Ігоря Валерійовича, на дисертаційну роботу Полив'яної Олександри Анатоліївни “МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ ЦЕНТРАЛЬНІЙ ДЕПРИВАЦІЇ ТЕСТОСТЕРОНУ” подану на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина створену для разового захисту спеціалізовану вчену раду при Полтавському державному медичному університеті МОЗ України.

Актуальність обраної теми

Рак передміхурової залози є найпоширенішим злоякісним новоутворенням у світі та провідною причиною смерті від раку у чоловіків. Діагностика встановлюється переважно на основі тестування на простат-специфічний антиген, магнітно-резонансної томографії та біопсії тканини передміхурової залози, хоча тестування на простат-специфічний антиген для скринінгу залишається суперечливим. Зараз доступні нові діагностичні технології, включаючи біологічні тести стратифікації ризику, тестування гермінальної лінії та різні позитронно-емісійні томографії. Коли захворювання обмежене передміхуровою залозою, воно вважається локалізованим та потенційно виліковним. Якщо захворювання поширилося за межі передміхурової залози, можна використовувати бісфосфонати, інгібітори рангових лігандів, гормональне лікування, хіміотерапію, радіофармацевтичні препарати, імунотерапію, сфокусоване опромінення та інші цільові методи лікування. Ця діяльність надає комплексний огляд сучасної оцінки та лікування раку передміхурової залози, підкреслюючи роль міждисциплінарної команди в покращенні догляду за ураженими пацієнтами.

Історичне уявлення про те, що підвищення рівня тестостерону відповідає за ріст раку простати, ґрунтувалося на елегантних, але обмежених дослідженнях

1940-х років та окремих клінічних випадках. Сучасні дані свідчать про те, що високий рівень ендогенних андрогенів не збільшує ризик діагностики раку простати. Аналогічно, терапія тестостероном у чоловіків з дефіцитом тестостерону, здається, не збільшує ризик раку простати або ймовірність більш агресивного перебігу захворювання при діагностиці раку простати. Насичення андрогенних рецепторів, здається, пояснює це явище. Чоловіки, які отримували терапію тестостероном після лікування локалізованого раку простати не страждають від вищих показників рецидивів або гірших результатів; хоча дослідження на сьогодні обмежені. Ранні повідомлення про чоловіків, які перебували під активним наглядом/вичікувальною групою та отримували тестостерон, не виявили побічних ефектів прогресування захворювання.

Тому, на мою думку з урахуванням всього вище сказаного, дисертаційна робота Полив'яної Олександри Анатоліївни на тему «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації тестостерону» є актуальним, своєчасним та перспективним науковим дослідженням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами

Дисертація виконана на згідно плану наукових досліджень Полтавського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри гістології, цитології та ембріології «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925. Авторка є співвиконавцем вказаної наукової роботи.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Експериментальне дослідження проводили на 60 дорослих самцях білих щурів, які були розподілені на 3 групи: I група – контроль, яким вводили фізіологічний розчин; II група – тварини, яким підшкірно вводився трипторелін у дозі

0,3 мг діючої речовини на кг маси тіла; III група – тварини, яким був введений трипторелін у дозі 0,3 мг діючої речовини на кг маси тіла з додаванням кверцетину 100мг на кг маси тіла.

Досліди на тваринах проводили згідно сучасних норм біоетики. Про це йдеться у висновку Комісії з питань біоетики Полтавського державного медичного університету (витяг з протоколу № 236 від 20.03.2025.). Необхідні дані містяться й у рукопису дисертації у відповідному розділі. Анатомічне препарування, забір матеріалу для морфологічного дослідження, його обробка, виготовлення гістологічних препаратів, їх подальша обробка (забарвлення) і дослідження проведені коректно; усі методики, в тому числі біохімічні, морфологічні, гістологічні, імуногістохімічні, підібрано відповідно завданням дослідження; вони описані достатньо для їх відтворення. Морфометричне дослідження і подальший статистичний аналіз отриманих даних проведені в достатньому обсязі. Все це свідчить про достовірність отриманих даних і обґрунтованість представлених здобувачем до захисту наукових положень, висновків та рекомендацій.

Наукова новизна одержаних результатів

Показано, що введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в печінці щурів внаслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту, а також корекція цього стану введенням кверцетину.

Встановлено, що реакція ГМЦР печінки на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшенням кровонаповнення тканин печінки яке максимально достовірно проявляється на 6-й місяць експерименту в обох експериментальних групах.

За допомогою комплексного дослідження встановлені особливості морфогенезу гепатоцитів при дисгормональному стані “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–печінка” викликаного введення триптореліну, що призводило до виникнення

зміни в популяції клітин двоядерцевих та двоядерних починаючи з 1-го до 12-го місяця дослідження та корекції цього стану введенням кверцетина.

Доказано, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

Практичне значення результатів дослідження

Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної експресдіагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах та дають змогу добору комплексу терапії за умови уражень печінки. Отримані нові наукові дані щодо використання рібофлаваноїду кверцетину який ефективно зменшує гіпоксичне ушкодження печінки при дисгормональному розладі, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи введення триптореліну. Отримані результати визначають важливість вивчення структурної організації паренхіми печінки, а саме в зміні кількості ядер та ядерць гепатоцитів в процесів дисгормонального розладу захищають від окисного стресу і гепатотоксичного пошкодження клітини, збільшують транскрипційні моменти в процесі поділу, рісту, проміжного обміну речовин, синтезу білка і його диференціювання.

Повнота викладення матеріалів роботи в опублікованих за темою дисертації працях

Основні результати та наукові положення дисертації повністю відображені у 12 наукових працях, з яких: 5 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS; 7 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура, стиль та обсяг дисертації

Дисертація викладена на 181 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 211 найменувань, розміщених на 29 сторінках. Робота проілюстрована 50 рисунками, 26 мікрофотографіями та 6 таблицями.

Оцінка змісту дисертації

Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, розділів, присвячених огляду літератури і опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів, у яких викладені результати власних досліджень, розділу, що містить аналіз та узагальнення отриманих результатів; висновків, списку проаналізованої літератури (який містить 211 джерел), та додатків, отже побудована за традиційною, класичною схемою.

Анотація написана українською і англійською мовами та оформлена згідно вимог. До анотації доданий список наукових праць, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації та які засвідчують апробацію матеріалів дисертації. В кожній перерахованій науковій праці наведено особистий внесок здобувача. Ця частина займає 10 сторінки друкованого тексту.

Вступ містить основні положення дисертаційної роботи, в тому числі обґрунтування вибору теми дослідження, її актуальність, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, визначено мету та завдання, об'єкт і предмет дослідження, коротко описані застосовані методи, сформульована наукова новизна і практичне значення одержаних результатів, визначені особистий внесок здобувача і апробація результатів дисертації, наведено аналіз публікацій здобувача та структуру рукопису дисертаційної роботи. За обсягом «Вступ» складає 13 сторінок друкованого тексту.

Розділ 1 «Структурна організація печінки щурів у нормі, за умов відсутності синтезу тестостерону та при використанні кверцетину (огляд літератури)». В цьому розділі представлено огляд наукових літературних джерел. Він висвітлений на 19 сторінках друкованого тексту та має три підрозділи.

В першому підрозділі детально описано особливості морфофункціональної характеристики гепатоцитів печінки в нормі та при різних патологічних станах. Другий підрозділ присвячений опису впливу триптореліну на структурну організацію печінки. Третій підрозділ розкриває можливості використання флаваноїду кверцетину для корекції різних патологічних станів.

У кінці розділу наведено висновки, які робить авторка на підставі аналізу сучасних наукових літературних джерел, які вплинули на формування мети і завдань дослідження.

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень». Розділ висвітлений на 8 сторінках. Експеримент був розподілений за наступним алгоритмом: I група – контрольна (10 тварин), яким був введений фізіологічний розчин; II група (25 тварин) - підшкірно був введений трипторелін у дозі 0,3 мг діючої речовини на кг маси тіла; III група (25 тварин) – яким був введений трипторелін у дозі 0,3 мг діючої речовини на кг маси тіла з додаванням кверцетину 100мг на кг маси тіла. Всього в дослідження включено 60 статевозрілих щурів самців.

При проведенні експериментального дослідження були використані наступні методи:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах;
- загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації гепатоцитів печінки, а саме ГМЦР та сполучно-тканинного і клітинного компонентів;
- морфометричний - для визначення кількісних параметрів структурних компонентів ГМЦР печінки та співвідношення одноядерцевих, двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів з підрахунком площі та об'єму ядер та цитолазми клітин;

- біохімічні методи – для визначення впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в тканинах печінки щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном;
- імуногістохімічні – показати зміни в розповсюдженні ензиму каспаза-3 при довготривалому за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

Усі методи, використані в роботі є інформативними, точними, легко відтворювані та спрямовані на досягнення мети дослідження.

Розділ 3 «Структурна організація ГМЦР печінки та перебудова гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном». Розділ викладений на 22 сторінках та проілюстрований рисунками. В цьому розділі детально описані гепатоцити щурів при тривалому блокуванні лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Розділ 4 «Вплив водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном». Розділ викладений на 15 сторінках і містить таблиці та присвячений проведенню статистичного аналізу і встановленню достовірності результатів дослідження. При статистичній обробці результатів експериментальної групи тварин, яким вводили водорозчинну форму кверцетину було підтверджено метаболічні зміни в печінці за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. В групі тварин, 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 синусів

соїдних капілярів, можуть свідчити про порушення венозного відтоку та кровонаповнення. Яким було змодельоване гостре асептичне запалення, морфологічні зміни стромального і паренхіматозного компонентів мали типовий характер.

Розділі 5 «Вплив блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину на зміни в активності каспази-3 в танині печінки щурів». Розділ викладений на 8 старінках, містить фото мікроперпаратів, діаграми та рисунки. У цьому розділі дисертантка розкриває питання впливу триптореліну на експресію каспази-3, динаміку апоптозу протягом експерименту, вплив кверцетину на апоптоз гепатоцитів.

Розділ 6 «Біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та її корекції кверцетином». Цей розділ містить у своєму складі два підрозділи, написаний на 13 рукописних аркушах, проілюстрований, має рисунки та діаграми. Викладено матеріал стосовно блокади 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.

Розділі 7 «Аналіз та узагальнення результатів». Дисертантка коректно та ґрунтовно узагальнює результати дослідження, змістовно та об'єктивно проводить обговорення отриманих результатів дослідження, а саме морфофункціональні особливості гепатоцитів щурів при центральній депривації тестостерону. Рівень аналізу матеріалу із залученням низки наукових публікацій вказує на ерудицію дисертанта.

Висновки дисертаційної роботи у кількості 5 в цілому відповідають меті та завданням дослідження, ґрунтуються на отриманих результатах дослідження і відображають основний зміст роботи.

Список використаних джерел наукової літератури займає 28 сторінок, містить 211 наукових публікацій.

Дисертація містить *додатки*, які займають 5 сторінок. Основні наукові положення і висновки дисертації достатньо апробовані на науково-практичних конференціях, де були позитивно схвалені провідними галузевими спеціалістами. Таким чином, дисертація побудована за класичною схемою, містить всі необхідні розділи, в цілому є завершеною науковою працею.

Дотримання норм академічної доброчесності

Дисертаційна робота, що розглядається, виконана з дотриманням норм академічної доброчесності; не виявлено ознак їх порушення, як-то плагіату, фабрикації і фальсифікації даних, та ін. Рукопис написано оригінальним, авторським стилем; вона містить ілюстрації та інші докази того, що дослідження проведено здобувачем самостійно. Текстові запозичення, що зустрічаються у відповідних розділів і є складовими огляду літератури, позначені посиленнями на відповідні першоджерела, наведені у списку літератури.

Недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення

Характеризуючи дисертаційну роботу в цілому позитивні враження, необхідно звернути увагу на деякі її недоліки:

1. В тексті дисертації потрібно зустрічається русизм: термін «печінкова балка», а не «печінкова балочка», «печінкова пластинка» і правильний термін «печінкова часточка», а не «печінкова долька».

2. В таблицях 3.1. і 4.1. відсутні статистичні позначки.

3. Зустрічаються орфографічні і технічні помилки.

Зазначені недоліки та зауваження не стосуються змісту дисертації по суті та ніяким чином не зменшують її загальну високу позитивну оцінку.

У плані дискусії вважаю за доцільне поставити наступні ***питання***:

1. Про що свідчить на вашу думку збільшення концентрації малонового діальдегіду (МДА) в тканинах печінки?

2. Які типи маркерів продукції супероксидного аніон-радикала ви визначали в даному дослідженні?

Загальний висновок та оцінка дисертаційної роботи

Вважаю, що дисертаційна робота «Морфофункціональна 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. Здобувач вдало досягнула мети дослідження, виконала всі задачі дослідження та зробила відповідні висновки. Основні наукові результати дисертаційного дослідження висвітлені в достатній кількості наукових публікацій, які повністю розкривають зміст дисертації.

Дисертаційна робота Полив'яної Олександри Анатоліївни «Морфофункціональна 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 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 зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМ №341 від 21 березня 2022р., №502 від 19 травня 2023р. та №507 від 3 травня 2024р. та наказу МОН України №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Дисертантка Полив'яна Олександра Анатоліївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, професор,
професор закладу вищої освіти кафедри гістології
Вінницького національного медичного університету
ім. М.І.Пирогова МОЗ України

Ігор ГУНАС