

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Української медичної
стоматологічної академії



професор **І.П.Кайдашев**

2020 р.

**ВИСНОВОК ПРО НАУКОВУ НОВИЗНУ, ТЕОРЕТИЧНЕ ТА
ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**
за результатами фахового семінару при Українській медичній
стоматологічній академії щодо попередньої експертизи дисертаційної
роботи аспіранта
ВОЛОШИНОЇ ОЛЕНИ ВАЛЕРІЇВНИ
за темою «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки
при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного
запалення»,
поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю
222 – Медицина
(протокол № 5 від 15 червня 2020 року)

Голова засідання - д.мед.н., професор Проніна О.М.

Секретар засідання - к.б.н., доцент Соколенко В.М.

На засіданні були присутні: співробітники кафедри гістології, цитології та ембріології: зав. каф., д.мед.н., професор Шепітько В.І., д.мед.н., професор Єрошенко Г.А., к.б.н., доцент Лисаченко О.Д., к.мед.н., доцент Пелипенко Л.Б., к.мед.н., доцент Стецук Є.В., к.мед.н., доцент Вільхова О.В., к.мед.н., доцент Якушко О.С., к.б.н. Борута Н.В., к.мед.н. Скотаренко Т.В.; співробітники кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії: зав. каф. д.б.н., професор Білаш С.М., д.мед.н., професор Проніна О.М., к.мед.н., доцент Пірог А.В., к.мед.н., доцент Коптев М.М.; співробітники кафедри анатомії людини: зав. каф., д.мед.н., професор Шерстюк О.О., к.мед.н., доцент Гринь В.Г., к.б.н. Білаш В.П.; співробітники кафедри патологічної анатомії з секційним курсом: зав. каф., д.мед.н., професор Старченко І.І., к.мед.н., доцент Ройко Н.В., к.мед.н., доцент Філенко Б.М.; зав. каф. медицини катастроф та військової медицини, д.мед.н., професор Шепітько К.В.; зав. каф. медичної біології, д.мед.н., професор Дубінін С.І.; зав. каф. патофізіології д.мед.н., професор Костенко В.О.

Всього присутніх: 22 особи.

Порядок денний:

Попередня експертиза дисертаційної роботи аспіранта кафедри **Волошиної Олени Валеріївни** на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина.

Тема дисертації затверджена на засіданні проблемної комісії «Фундаментальні дисципліни» Української медичної стоматологічної академії (протокол № 3 від 19 червня 2017 року).

Дисертація виконана на базі Української медичної стоматологічної академії.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор Шепітько Володимир Іванович, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії.

Рецензенти:

Ерошенко Галина Анатоліївна, д.мед.н., професор кафедри гістології, цитології та ембріології УМСА, має 3 наукові публікації, опублікованих за останні п'ять років, за науковим напрямом, за яким підготовлено дисертацію здобувача, з яких 1 публікація - у виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus та/або Web of Science Core Collection; не входила до складу разових спеціалізованих рад більше восьми разів протягом останнього року та не входить до числа близьких осіб здобувача; здобула науковий ступінь кандидата та доктора наук більш ніж за п'ять років до моменту створення спеціалізованої вченої ради.

Костенко Віталій Олександрович, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патофізіології УМСА, має 3 наукові публікації, опублікованих за останні п'ять років, за науковим напрямом, за яким підготовлено дисертацію здобувача, з яких 1 публікація у виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus та/або Web of Science Core Collection; не входив до складу разових спеціалізованих рад більше восьми разів протягом останнього року та не входить до числа близьких осіб здобувача; здобув науковий ступінь кандидата та доктора наук більш ніж за п'ять років до моменту створення спеціалізованої вченої ради.

Слухали: доповідь аспіранта кафедри гістології, цитології та ембріології Волошиної Олени Валеріївни.

Текст доповіді:

Вельмишановний головуєчий, вельмишановні члени вченої ради, присутні!

Стрімкий розвиток науково-технічного прогресу на сучасному етапі життя щороку призводить до зростання захворюваності в Україні приблизно на 1,5 % шляхом ураження життєво важливих органів, одним з яких є печінка.

Однією з важливих функцій печінки є дезінтоксикація речовин ендогенного та екзогенного походження. Отже, значна роль в розвитку патології печінки належить негативному впливу факторів навколишнього середовища, використання в їжу харчових добавок та інших хімічних речовин, ліків, алкоголю, а також тютюнопаління.

Вищезначені фактори є основними передумовами для вивчення патології печінки, крім того, слід зазначити соціальну складову - частіше за все хворіє працездатне населення, що не може не відобразитися на економічному становищі країни.

Тому, вивчення реакції гепатоцитів на запальний процес в організмі, є перспективним напрямком сучасної морфології та експериментальної медицини.

За даними літератури одним з ефективних препаратів у комплексній терапії запальних процесів є кріоконсервована плацента, яка містить у своєму складі біологічно-активні речовини, що забезпечують імуномодельючу, протизапальну і адаптогенну дію, стимулюють репаративні реакції.

Виходячи з вищенаведеного ми і поставили за мету дослідити морфофункціональну характеристику гепатоцитів у інтактних щурів, реакцію їх на одноразове підшкірне введення кріоконсервованої плаценти та введення її при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини.

Експериментальні тварини були розподілені на чотири групи: 1 група складала 5 інтактних тварин; 2 групу склали 45 тварин, яким було введено одноразово, підшкірно кріоконсервовану плаценту; 3 група складалася із 45 тварин, яким було змодельоване гостре асептичне запалення; 4 група складалася із 45 тварин, яким на тлі змодельованого запалення, було введено кріоконсервовану плаценту. Евтаназію тварин здійснювали тіопенталом натрію в терміни, зазначені в таблиці.

Для досягнення поставленої мети були використані наступні методи дослідження: гістологічний, електронномікроскопічний, морфометричний, статистичний.

Вивчення парафінових зрізів печінки інтактної групи щурів дало змогу морфологічно виявити будову печінкової часточки. Привенулярні гепатоцити (центральна зона), проміжні (проміжна зона) і припортальні (периферична зона) не мали патологічних змін. Мікросудини були нормального кровонаповнення.

Проведені електронномікроскопічні дослідження показали, що для гепатоцитів були характерні ядра круглої форми, ядерні мембрани каріолеми були чітко оконтуровані. У цитоплазмі гепатоцитів органели розміщувалися зонально, залежно від функціонального призначення. Плазмолеми гепатоцитів мали чітко виражену структуру.

Дані дослідження дозволили зробити висновок, що будова структурних компонентів печінкових часточок не мала видових особливостей. Отримані результати ультраструктури органа інтактної групи є контрольними і необхідні для встановлення змін, що можуть виникнути у експериментальних групах тварин.

Введення кріоконсервованої плаценти (2 експериментальна група) суттєво не впливало на мікроскопічні та метричні показники компонентів печінкової часточки на 1-3-ю доби експерименту. Електронномікроскопічно були наявні деякі реактивні зміни ультраструктури гепатоцитів: в ядрах спостерігались крупні одне або два ядерця), у каріоплазмі переважав еухроматин, було багато рибосомальних гранул, цитоплазма містила розширені канальця грЕПС та цистерни КГ.

У середні терміни (5-7-а доби) дослідіу виявлялися помірно змінені гепатоцити. В клітинах була виявлена коагуляція цитоплазми та зерниста

дистрофія. Кількість двоядерних клітин збільшена (**блакитна**). Зустрічались гепатоцити з великими гіперхромними ядрами.

Згідно електронномікроскопічного дослідження частина клітин у середні терміни мала ядра неправильної форми внаслідок інвагінацій каріолеми, перинуклеарний простір був місцями збільшений. У цитоплазмі спостерігалось багато мітохондрій, частина з яких була гіпертрофована.

У пізні терміни (14, 21 доби) досліду в складі часточок печінки спостерігались мало змінені гепатоцити, в їх цитоплазмі відмічалась гіперплазія мітохондрій, поступово відбувалась нормалізація стану клітин, вони не мали відмін ультраструктурної організації від печінки тварин інтактної групи.

З 21-ої по 30-у доби показники структурних елементів часточки повністю відповідали показникам інтактної групи, гепатоцити знаходились у нормальному морфологічному стані.

При гострому експериментальному асептичному запаленні (3 група), у ранні терміни експерименту проведені нами дослідження показали, що вже на 1-3-ю доби в складі часточок виявлялися початкові деструктивні зміни, що проявлялись змінами її складових компонентів.

У різних ділянках часточок відмічались гепатоцити з електроннопросвітленими ділянками гіалоплазми, щільність органел у яких була зменшена, порівняно з клітинами тварин інтактної групи. Плазмолемі гепатоцитів нечітко контуровані, ядра містили невеликі ущільнені ядереця, зовнішня ядерна мембрана з ділянками збільшеного перинуклеарного простіру.

Зміни ультраструктури органел проявлялись гіпертрофією частини мітохондрій, які мали небагато крист внаслідок пошкодження частини з них, каналці грЕПС та агрЕПС були потовщені, частково фрагментовані, погано

виражені структурні компоненти КГ, мало рибосом і полірибосом, зростала кількість.

На 5-7 добу експерименту на тлі запалення спостерігалися два типи гепатоцитів. Структура однієї групи знаходилася у стані функціонального напруження. Гепатоцити другої групи зазнавали дистрофічних і деструктивних порушень. Мікроскопічні дослідження печінки тварин в ці терміни встановили зростання деструктивних змін всіх компонентів часточок, порівняно з ранніми термінами досліду, наприклад, каріолізис та глибокий розпад.

Електронномікроскопічне дослідження підтвердило подальше зростання деструктивних змін всіх компонентів часточок.

В них були наявні гетерогенні зміни гепатоцитів. Виявлялись “темні” клітини з підвищеною осміофілією гіалоплазми та суттєвими змінами органел: пошкоджені каналці грЕПС та цистерни КГ, з нерівномірним їх потовщенням та фрагментацією, з невеликою кількістю рибосом на мембранах грЕПС, зустрічались первинні осміофільні лізосоми, крупні – вторинні, локалізовані у біліарних полюсах гепатоцитів.

Ультраструктура “світлого” гепатоцита характеризувалась електроннопрозорою гіалоплазмою, у якій менше органел. Канальці грЕПС та цистерни КГ були фрагментовані та потовщені, мітохондрії з погано контурованими кристами.

Найбільш показові зміни гепатоцитів були виявлені на 10, 14 та 21-у доби експерименту, які характеризувались розвитком термінальної фази запалення. Вона проявлялась коагуляцією цитоплазми гепатоцитів, в деяких були вогнища зернистої дистрофії цитоплазми, в термінальній фазі експерименту було виявлено велику кількість клітин з каріолізисом та глибоким розпадом цитоплазми. На 21-у добу експерименту тяжкі ураження, характерні для термінальної стадії, мала більшість гепатоцитів:

пiкнотичнi ядра, запусiннiя цитоплазми, наявнiсть величезних вакуолiв в перинуклеарнiй зонi, тобто виявлявся значний некроз i цитолiз бiльшостi гепатоцитiв.

При електронномiкроскопiчному дослiдженнi у вiддаленi термiни експерименту були встановленi найбiльш вираженi деструктивнi змiни всiх компонентiв часточок органу.

“Темнi” гепатоцити мали суттєвi змiни цитоплазматичних структур: пошкодженi каналцi грЕПС та цистерн КГ, частина мiтохондрiй в них гiпертрофована з деформованими мембранами i пошкодженими кристами.

“Свiтлi” гепатоцити мiстили ядра з нерiвнорiйними дiлянками перинуклеарного простору ядерної оболонки, ядерця виявлялись рiдко i були невеликими та щiльними. Вiдмiчалась значна змiна клiтинних органел: каналцi грЕПС та агрЕПС були значно потовщенi, мембрани мiсцями пошкодженi, частина мiтохондрiй гiпертрофована з нерiвними контурами мембран та пошкодженими кристами, у цитоплазми спостерiгались жировi вклучення. Плазмолема гепатоцитiв васкулярної дiлянки нечiткi, частково зруйнованi.

На 30-у добу експерименту на фонi зруйнованих гепатоцитiв цiлi одноядернi гепатоцити виявлялися у невеликiй кiлькостi, у пiзнi термiни були виявленi незворотнi деструктивнi пошкодження гепатоцитiв, якi до кiнця дослiдження не вiдновлювалися.

Таким чином, електронномiкроскопiчне дослiдження показало, що за умов експериментального асептичного запалення в печiнцi щурiв у часточках порушувалась ультраструктура гепатоцитiв, пошкоджувалися плазмолема та мембрани органел. У раннi термiни дослiду встановленi компенсаторно-приспосувальнi змiни. У наступнi термiни були виявленi бiльш глибокi змiни всiх структурних компонентiв часточок печiнки у виглядi незворотних деструктивних пошкоджень гепатоцитiв, що значно

погіршувало стан метаболічних процесів в органі та її детоксикаційні можливості.

Корекція морфофункціонального стану клітин печінки введенням кріоконсервованої плаценти в 4 експериментальній групі проводилась на тлі гострого асептичного запалення очеревини, починаючи з 1-ої доби. Але результати мікроскопії на світлооптичному рівні на 1-3-ю доби показали, що виявлені зміни ідентичні змінам гепатоцитів 3 експериментальної групи.

Електронномікроскопічні дослідження часточок печінки тварин 4 групи в ці терміни встановили реактивні зміни ультраструктури гепатоцитів, які мали округлі ядра, з однорідною зернистою каріоплазмою та невеликим ядерцем, перинуклеарний простір був незначно розширений, окремі ділянки його потовщені. У цитоплазмі відмічалось мало рибосом и полірибосом, була наявна гіпертрофія частини мітохондрій, кристи яких розташовувались переважно по периферії, внаслідок редукції їх у центральних ділянках, відмічалось незначне потовщення каналців грЕПС та агрЕПС та цистерн КГ, в біліарних ділянках цитоплазми зростав вміст первинних та вторинних лізосом Плазмолемі гепатоцитів місцями були погано структуровані, нечіткі, проте зі збереженими міжклітинними контактами, які обмежували жовчні капіляри.

У середні терміни (5-7-10-а доби) експерименту встановлені мікроскопічні ознаки позитивного впливу застосування плаценти на структуру гепатоцитів. Стан печінкових часточок збережений, структура гепатоцитів була різною, деякі гепатоцити змінювали форму, змінювалась кількість двоядерних гепатоцитів, деякі ще були з ознаками каріопікнозу, відмічалось часткове руйнування гепатоцитів навколо центральних вен, вогнищевий некроз деяких гепатоцитів.

Електронномікроскопічне дослідження підтвердило позитивний вплив застосування кріоконсервованої плаценти на структуру клітин печінки. В

складі часточок, як і раніше, спостерігались гепатоцити із різною електронною щільністю гіалоплазми – “темні “ та “світлі“ клітини, але ультраструктурні їх компоненти були значно менше змінені, ніж у печінці групи тварин з асептичним запаленням.

“Світлі“ гепатоцити мали ядра круглої форми, з крупними ядерцями та чіткими контурами ядерних мембран, невеликим перинуклеарним простором та великою кількістю ядерних пор. Цитоплазма гепатоцитів включала досить структуровані органели. У “темних “ гепатоцитах їх щільність була більшою. Мітохондрії мали середні розміри, їх зовнішні мембрани і кристи чіткі. У “світлих“ клітинах спостерігалось менше мітохондрій, частина їх була гіпертрофована, спостерігались плоскі або помірно потовщені каналці грЕПС с багатою кількістю рибосом, добре структуровані каналці КГ, первинні та вторинні лізосоми.

У пізні терміни (14, 21 доби) досліді нами був встановлений найбільший позитивний вплив плаценти на структурні компоненти часточок на тлі запалення. В них відмічалось багато малозмінених гепатоцитів з характерними ядрами округлої форми та великими ядерцями, каріолема їх мала чітко контуровані ядерні мембрани, перинуклеарний простір був рівномірний, ділянок його розширення не встановлено. В цитоплазмі клітин відмічались добре структуровані мітохондрії з чіткими кристами, просвіти каналців грЕПС та цистерн КГ не потовщені, багато рибосом, були наявні первинні лізосоми.

На 21-30-а доби експерименту в складі часточок багато малозмінених гепатоцитів, структура їх максимально наближена до печінки тварин інтактної групи.

К 30-ї добі експерименту морфологічний стан печінкових клітин досягав норми.

Виходячи з вищесказаного, проведені нами дослідження печінки тварин за умов корекції ГЕАЗО введенням кріоконсервованої плаценти дозволили встановити, що структурні компоненти часточок печінки зазнавали менше значні пошкодження вже на ранніх термінах експерименту.

Нами була проведена низка морфометричних досліджень структурних компонентів гепатоцитів, були визначені показники великого і малого діаметру та площі ядер клітин.

Великий діаметр ядер гепатоцитів у тварин II групи збільшувався, починаючи з 2-ої доби експерименту та був помітно високим до 10-ої доби (у 1,13 рази) а з 14-ої доби повільно зменшувався і досягав норми на 30-у добу.

У тварин III групи великий діаметр також починав збільшуватися з 2-ої доби експерименту, і на 7-у добу був збільшений в 1,22 рази, порівняно з інтактом, потім повільно зменшувався, але на 30-у добу не досягав норми (був збільшений в 1,02 рази).

При дослідженні тварин IV групи діаметр ядер гепатоцитів збільшувався на 3-ю добу експерименту (у 1,02 рази), досягав найбільших величин на 10-у добу (був збільшений у 1,13 рази), а з 14-ої доби починав зменшуватися та досягав норми на 30-у добу.

При вимірах малого діаметру ядер гепатоцитів показники мали зміни, ідентичні змінам великого діаметру: вони збільшувалися, починаючи з перших діб експерименту, високих значень досягали на 7-10-ту добу, потім повільно зменшувались до показників інтакту у II та IV групи тварин, та залишались декілька збільшеними у тварин III групи (у 1,16 рази).

При вимірюванні площі ядер гепатоцитів були отримані наступні результати.

У тварин II групи площа ядер гепатоцитів збільшувалася з 3-ої доби експерименту та досягала високих значень на 7-10-у доби (у 1,42 рази) та на 30-у добу дорівнювала показникам інтактної групи.

Площа ядер у III групи тварин збільшувалася з 1-ої доби експерименту і досягала високих показників на 7-у добу (у 1,66 рази), потім повільно зменшувалася, але на 30-у добу експерименту була вище значень інтактну (у 1,19 рази).

Тварини IV групи мали площу ядер гепатоцитів, яка збільшувалася на 3-ю добу експерименту й досягала високих показників к 5-ої добі (у 1,32 рази), на 14-у добу відмічалось зменшення (у 1,13 рази) і на 30-у доби показники дорівнювали значенням інтактної групи.

Нами також були проведені дослідження кількості одноядерних та багатоядерних гепатоцитів у найбільш показові доби експерименту: 2-3-я та 7-10-а доби.

Кількість одноядерних гепатоцитів у тварин II групи незначно зменшувалась на 10-у добу (у 1,05 рази), а кількість багатоядерних гепатоцитів, навпаки, збільшувалася (у 1,53 рази) в порівнянні з інтактною групою.

У тварин III групи кількість одноядерних гепатоцитів незначно збільшувалась на 10-у добу (у 1,02 рази), а багатоядерних – зменшувалась у порівнянні з інтактом у 1,26 рази).

Кількість одноядерних і багатоядерних гепатоцитів у тварин IV групи незначно зростала з 7-10-ої доби експерименту (у 1,01 рази та 1,16 рази відповідно).

Можна зробити припущення, що цілісність ядер у всіх групах піддослідних тварин та збільшення їх розмірів можна віднести до компенсаторної гіпертрофії, можливо з метою подальшої індукції регенерації

клітин печінки.

Таким чином, використання ККП попереджало і зменшувало пошкодження мембранних органел, ядерних і плазматичних мембран клітин печінки. Поступово і особливо у пізні терміни досліджу відбувалось нормалізація структурних компонентів гепатоцитів, що дало змогу зробити припущення про відновлення функціональних можливостей органу.

На висновках дозвольте не зупинятись, вони отримані членами ради.

Дякую за увагу!!!

Були задані питання, на які дисертант надав вичерпну відповідь.

В дискусії взяли участь: завідувач кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії, д.б.н., професор Білаш Сергій Михайлович, завідувач кафедри медицини катастроф та військової медицини, д.мед.н., професор Шепітько Костянтин Володимирович, завідувач кафедри медичної біології, д.мед.н., професор Дубінін Сергій Іванович, завідувач кафедри патологічної анатомії з секційним курсом, д.мед.н., професор Старченко Іван Іванович, співробітники кафедри гістології, цитології та ембріології: к.мед.н., доцент Стецук Євген Валерійович, к.мед.н., доцент Вільхова Олена Вікторівна, к.мед.н., доцент Якушко Олена Святославівна, співробітник кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії, к.мед.н., доцент Пірог Ангеліна Валеріївна, співробітник кафедри анатомії людини к.б.н. Білаш Валентина Павлівна, співробітники кафедри патологічної анатомії з секційним курсом: к.мед.н., доцент Ройко Наталія Віталіївна, к.мед.н., доцент Філенко Борис Миколайович.

1. Актуальність теми. Запалення є універсальною фізіологічною реакцією організму на ушкодження, може викликатися інфекційними, алергічними, токсичними, фізичними і нейрогенними чинниками та локалізувати патологічний процес, що призводить до елімінації збудника і відновлення гомеостазу. Однак, при високій вірулентності збудника та

наявності факторів ризику запальний процес нерідко стає причиною патологічних змін. Летальність від поліорганної недостатності, що розвивається при асептичному перитоніті складає від 76% до 100% та протягом останніх десятиліть не має стійкої тенденції до зниження. Бактеріальні токсини, продукти аутолізу тканин у великих дозах надходять у лімфу, загальний кровообіг та пошкоджують органи-цілі, що відносяться до високодиференційованих систем організму. Це призводить до порушення їх структурно-функціональної організації та метаболізму, що сприяє прогресуванню ендотоксемії.

Печінка відіграє центральну роль в обміні речовин: білковому, вуглеводному, ліпідному, біологічно-активних речовин, вітамінів і мікроелементів. Порушення структури і функції гепатоцитів займає одне з провідних місць в патогенезі асептичного запалення очеревини у щурів. В літературі описані експериментальні дані та позитивні клінічні результати щодо ефективного використання кріоконсервованої плаценти при різних патологічних станах, зокрема її вплив на перебіг запальних процесів. Але досить багато аспектів у питаннях механізмів дії тканинної терапії залишаються недостатньо вивченими, що й зумовлює необхідність подальших досліджень у даній області.

Тому дисертаційне дослідження Волошиної О.В. є актуальним та відповідає сучасним напрямам медичної науки.

2. Тема дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії затверджена на засіданні Вченої ради факультету підготовки іноземних студентів Української медичної стоматологічної академії (протокол № 2 від 26 жовтня 2016 року) та засіданні проблемної комісії «Фундаментальні дисципліни» Української медичної стоматологічної академії (протокол № 3 від 19 червня 2017 року).

3. Зв'язок теми із державними або галузевими науковими програмами та планами робіт установи. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи Української медичної стоматологічної академії

МОЗ України „Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан внутрішніх органів” (№ державної реєстрації 0113U006185), „Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК), дифереліну, етанолу та 1% ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів” (№ державної реєстрації 0119U102925). Автор є співвиконавцем даної роботи.

4. Особистий внесок здобувача у дисертації. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням автора, виконаним на кафедрі гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії (завідувач кафедри проф. Шепітько В.І.), де була проведена експериментальна частина дослідження (моделювання гострого асептичного запалення очеревини, одноразове введення кріоконсервованої плаценти та корегування асептичного запалення введенням піддослідним тваринам кріоконсервованої плаценти). Дисертантом визначені мета та задачі дослідження, самостійно проведено патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, виконано всі етапи експериментального дослідження, морфологічна та статистична обробка отриманих даних, систематизовано та узагальнено отримані результати, визначено наукову новизну дисертації та її практичну значимість, проведений аналіз літературних джерел, написання й оформлення глав дисертаційної роботи. Автор сформулювала і довела основні положення роботи, запропонувала впровадження отриманих результатів у практику. Сумісно з науковим керівником д.мед.н., професором Шепітько В.І. обрано тему дисертаційної роботи, сформульовані висновки та впровадження отриманих результатів дисертаційної роботи у практику. У співавторстві в опублікованих наукових працях і патенті, участь дисертанта є визначальною.

5. Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій. Дисертаційна робота Волошиної О.В. виконана з

використанням сучасних гістологічних, електронномікроскопічних методів досліджень. В експерименті була використана достатня для отримання вірогідних результатів кількість щурів (140 статевозрілих щурах – самцях лінії „Вістар”, масою (180-200) г.). Представлені автором положення і висновки обґрунтовані одержаними даними і є логічним наслідком результатів досліджень. Методи дослідження та експериментальні моделі є адекватними для вирішення завдань, визначених у роботі. Статистичну обробку отриманих результатів проведено в повному обсязі, їх вірогідність не викликає сумнівів.

6. Характеристика первинної документації. Комісія, затверджена наказом № 21-н від 07.05.2020 року у складі Білаша Сергія Михайловича, д.б.н., професора, завідувача кафедри клінічної анатомії і оперативної хірургії (голова комісії), Вільхової Олени Вікторівни, к.мед.н, доцента кафедри гістології, цитології та ембріології, к.мед.н., доцента кафедри патофізіології Денисенко Софії Валеріївни та Скрипник Валентини Павлівни, головного метролога академії, перевірила стан первинної документації та матеріалів дисертації Волошиної Олени Валеріївни та встановила, що документи представлені в повному обсязі, оформлені необхідним чином (пронумеровані, прошнуровані, скріплені печаткою). Порушень у веденні та оформленні первинних документів не знайдено.

Цифровий матеріал у перевірених комісією документах повністю базується на фактичному матеріалі проведених Волошиною О.В. досліджень. Достовірність результатів підтверджується протоколами статистичної обробки.

7. Заключення комісії з питань етики. При роботі з тваринами здобувач дотримувався вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18 березня 1986 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006 р.), Етичного кодексу лікаря України та Етичного кодексу науковця України. Комісією з питань біоетики

Української медичної стоматологічної академії (протокол № 182 від 29.04.2020 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

8. Наукове значення роботи.

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, яке полягає у визначенні особливостей структурної перебудови гепатоцитів печінки інтактних щурів, після одноразового підшкірного введення кріоконсервованої плаценти та введенні її при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини.

Встановлено, що у щурів інактної групи структурна організація печінки принципово від людини не відрізнялась. Вона має часточкову будову. В тонких міжчасточкових сполучнотканинних прошарках судини формують триаду - міжчасточкову артерію та міжчасточкову вену, які супроводжує міжчасточкова жовчна протока. Між синусоїдами розміщуються гепатоцити у вигляді печінкових балок. Середній показник площі гепатоцитів складає у тварин інтактної групи $1364,226 \pm 35,982$ мкм², ядерно-цитоплазматичне співвідношення – $0,196 \pm 0,006$. Середня площа ядер дорівнює $249,304 \pm 5,861$ мкм².

Введення щурам ККП впливає на клітинний і судинний компоненти печінки, що проявляється повнокров'ям і розширенням синусоїдів на ранніх термінах спостереження, з 7-ої до 14 доби збільшуються діаметри просвітів навколочасточкових та центральних вен. Відновлення перфузії крові і структурної організації судин визначається на 21-у добу експерименту. З 7-ої доби в гепатоцитах виявляється коагуляція цитоплазми та дрібнокрапельна гідропічна дистрофія, кількість двоядерних клітин збільшена, локально візуалізувались гепатоцити з великими гіперхромними ядрами, помірно розширені жовчні капіляри. На 10-у добу виявляється вогнищева гідропічна дистрофія цитоплазми в окремих гепатоцитах, двоядерні клітини зустрічаються зрідка. Відновлення гістофункціонального стану гепатоцитів визначається на 14-у добу спостереження.

Після дії ККП визначаються зміни метричних параметрів гепатоцитів. Середня площа клітин і ядер прогресивно збільшувалась з 1-ої до 10-ої доби і сягала 37 % і 42 % відповідно ($p < 0,001$). До 30-ої доби спостерігалась тенденція до зменшення показників, але повного відновлення не визначається. Значення ядерно-цитоплазматичного індексу збільшились на 24,9 % на 2-у добу і відновились на 3-ю.

Встановлено, що на ранніх термінах ГЕАЗО спостерігаються помірно розширені, повнокровні центральні вени, просвіти синусоїдів нерівномірно розширені. Балкова структура печінкових часточок є збереженою. У більшості гепатоцитів ядра контурувалися, окремі з ознаками каріопікнозу або каріолізу. Спостерігається зерниста дистрофія цитоплазми. Локально визначаються лімфо-гістіоцитарні інфільтрати. Деструктивні зміни гепатоцитів максимально проявляються на 21-у добу експерименту. Більшість клітин містить пікнотичні ядра, великі вакуолі в перинуклеарній зоні, що є ознаками цитолізу більшості гепатоцитів. Розширені синусоїди заповнені форменими елементами крові, в ендотеліоцитах спостерігаються значні деструктивні зміни. До 30-ої доби експерименту на тлі зруйнованих гепатоцитів виявляються у невеликій кількості цілі одноядерні гепатоцити, зменшилась кількість тромбів у центральних венах, відновлювались судини на периферії печінкових часточок, але повного відновлення структурних компонентів не встановлено.

Доведено, що ГЕАЗО впливає на метричні показники гепатоцитів, що проявляється збільшенням на 3-ю добу ядерно-цитоплазматичного індексу на 47 % ($p < 0,001$), який до 30-ї доби не відновився і на 24 % ($p < 0,001$) переважає значення в інтактній групі тварин. На тлі недостовірних змін площі клітин, площа ядер на 66 % ($p < 0,001$) збільшується на 7-у добу і до 30-ї доби на 19 % є більшою за значення в інтактній групі ($p < 0,001$). Кількість багатоядерних гепатоцитів прогресивно зменшувалась до 10-ї доби на 37 %.

При підшкірному введенні ККП на тлі ГЕАЗО в клітинному і судинному компонентах часточок печінки щурів до 10-ї доби експерименту

встановлені стереотипні зміни як і в групі з ГЕАЗО. З 14-ї доби спостереження у складі часточок визначаються переважна більшість незмінених гепатоцитів та гемокапілярів, ультраструктура їх була наближена до печінки тварин інтактної групи. На 30-у добу структура гепатоцитів і гемомікросудин відновилась.

Встановлено, що ядерно-цитоплазматичний індекс на 7-у добу експерименту збільшується на 47 % ($p < 0,001$) і відновлюється до 30-ї доби. Середня площа клітин змінювалась недостовірно. Показники середньої площі ядер гепатоцитів на 5-у добу спостереження на 32 % ($p < 0,001$) перевищує значення в інтактній групі щурів і до 30-ї доби вірогідно від значень в інтактній групі не відрізняється. Кількість багатоядерних гепатоцитів вірогідно не змінюється протягом спостереження.

9. Теоретичне значення. Дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням, в якому проведено вивчення морфології структурних компонентів печінкової часточки. Дані про особливості ультраструктури гепатоцитів щурів у нормі, при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини та при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти можуть використовуватися як теоретичне підґрунтя для пошуку нових методів лікування в гастроентерології, гепатології.

10. Відповідність вимогам до оформлення дисертації. Дисертаційна робота викладена на 167 сторінках комп'ютерного тексту і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 45 рисунками та 16 таблицями. Список літератури містить 271 джерело (кирилицею та латиницею).

Дисертація повністю відповідає вимогам до оформлення дисертації, затверджених Наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 № 40 із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки № 759 від 31.05.2019.

11. Практичне значення роботи. Розширені та уточнені відомості щодо морфофункціональних особливостей гепатоцитів доцільно ввести в навчальний процес кафедр гістології, цитології, ембріології, анатомії людини, патологічної анатомії, топографічної анатомії, внутрішніх хвороб та кафедри загальної практики та сімейної медицини УМСА.

Розроблений спосіб корекції гепатоцитів щурів трансплантацією кріоконсервованої плаценти на фоні асептичного запалення очеревини щурів (патент України №134352 на корисну модель).

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрі гістології, цитології та ембріології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет» імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Львівського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету.

12. Повнота опублікування результатів дисертації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових праць, із них 4 статті у фахових наукових виданнях (1 - у виданні, яке входить до наукометричної бази Web of Science, 1- у виданні в країні Євросоюзу), 1 стаття опубліковано одноосібно, 7 тез доповідей було надруковано в матеріалах науково-практичних конференцій. Отримано 1 патент України на корисну модель. Дисертація повністю опублікована відповідно до вимог Постанови Кабінету Міністрів України № 167 «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» від 6 березня 2019 р.

13. Апробація результатів дисертації. Основні матеріали дисертації доповідались на III Всеукраїнської науково-практичної конференції „Морфологія людини та тварин”, присвяч. 70-й річниці з дня народження О.І. Цебржинського (Миколаїв, 2017); Міжнародній заочній науково-практичній конференції, присвяч. 95-річчю від дня народження проф. Т.П. Максименка "Актуальні питання стоматології" (Полтава, 2018); на обласній науково-практичній конференції "Актуальні питання дитячої стоматології", присвяч. пам'яті к.мед.н., доц. Павленко Л.Г. (Полтава, 2018); Міжнародній

науково-практичній конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в клінічній практиці лікаря» (Вінниця, 2019); науково-практичній конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження проф. М.А. Дудченка "Від нових наукових концепцій в терапії до конкретного пацієнта " (Полтава, 2019); науково-практичній конференції „Прикладні аспекти морфології. Експериментальні і клітинні дослідження”, (Тернопіль, 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених „Медична наука в практику охорони здоров'я” (Полтава, 2019).

14. Особистий внесок здобувача до наукових праць.

Публікації в яких були опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Voloshyna O.V. Structural organization of rat hepatic cells and their correction with cryopreserved placenta in experimental peritonitis. East European Science Journal. 2019; 10 (50): 23-28.
2. Волошина ОВ, Григоренко АС, Донец ІМ. Методи експериментальних досліджень гепатоцитів при асептичному перитоніті. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2018; 2(62): 151-154. *(Особистий внесок здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел стосовно морфологічних методів дослідження, проведення експерименту, аналіз результатів, написання розділу 2 дисертації, відповідь рецензентам).*
3. Волошина ОВ, Шепітько ВІ. Морфологічна структура гепатоцитів при асептичному запаленні очеревини щурів. Світ медицини та біології. 2018; 4(66): 149-151. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення гістологічних досліджень, опис електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу 4 та 6 дисертації, відповідь рецензентам).*
4. Шепітько ВІ, Волошина ОВ, Пелипенко ЛБ. Порівняльна характеристика морфології гепатоцитів при впливі різних патогенних факторів. Вісник проблем біології і медицини. 2019; 2(149): 55-59. *(Особистий внесок*

здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел, написання розділу огляд літератури, відповідь рецензентам).

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Волошина ОВ, Шепітько ВІ. Електронномікроскопічна характеристика гепатоцитів печінки у щурів в нормі. Матеріали ІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції „Морфологія людини та тварин”, присвяч. 70-й річниці з дня народження О.І. Цебржинського; 2017 листоп. 2-3; Миколаїв. Миколаїв: МНУ; 2017; с.36-37. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, опис електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, написання розділу 3 дисертації, відповідь рецензентам)*

6. Шепітько ВІ, Скрипнікова ТП, Волошина ОВ. Порушення структури гепатоцитів на тлі асептичного запалення та можливий взаємозв'язок з органами порожнини рота. Матеріали міжнародної заочної наук. практ. конф., присвяч. 95-річчю від дня народження проф. Т.П. Максименка "Актуальні питання стоматології" (стендова доповідь); 2018; Полтава. Полтава: УМСА; 2018. *(Особистий внесок здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел стосовно дослідження, проведення експерименту, аналіз результатів, написання розділу 1, 5 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)*

7. Волошина ОВ, Шепітько ВІ. Запальні захворювання в порожнині рота та їх роль в функціональному порушенні печінкових клітин. Матеріали обласної науково-практичної конференції "Актуальні питання дитячої стоматології", присвяч. пам'яті к.мед.н., доц. Павленко Л.Г. (стендова доповідь); 2018 груд. 4; Полтава. Полтава: УМСА; 2018. *(Особистий внесок здобувача: пошук, аналіз та узагальнення літературних джерел стосовно дослідження, проведення експерименту, аналіз результатів, написання розділу 1 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)*

8. Волошина ОВ, Григоренко АС. Динаміка ультраструктурних змін гепатоцитів при експериментальному перитоніті. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна патоморфологічна діагностика в

клінічній практиці лікаря»; 2019 квітня 10-11; Вінниця. Вінниця: Вид-во „Твори”;2019; с.16-18. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення гістологічних досліджень, детальний опис електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу 4 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)*

9. Волошина ОВ. Електронно-мікроскопічні зміни гепатоцитів щурів при запальному процесі очеревини. Матеріали науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження проф. М.А. Дудченка "Від нових наукових концепцій в терапії до конкретного пацієнта" (стендова доповідь); 2019 серпня 29; Полтава. Полтава: УМСА; 2019. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення гістологічних досліджень, детальний опис електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу 4 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)*

10. Волошина ОВ, Шепітько ВІ. Морфологічні зміни структур печінки щурів при одноразовій трансплантації кріоконсервованої плаценти. Збірник науково-практичної конференції „Прикладні аспекти морфології. Експериментальні і клітинні дослідження”; 2019 жовтня 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2019; с.27-29. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення гістологічних досліджень, детальний опис електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу 5 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)*

11. Волошина ОВ. Ультраструктура гепатоцитів щурів при одноразовому введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного перитоніту. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених „Медична наука в практику охорони здоров'я”; 2019 листоп. 22; Полтава. Полтава: УМСА; с.44-45. *(Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, проведення гістологічних досліджень, детальний опис*

електронномікроскопічного дослідження, аналіз результатів, статистична обробка результатів, написання розділу 5 та 6 дисертації, відповідь рецензентам)

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:

12. Волошина ОВ, Шепітько ВІ, Пелипенко ЛБ, Григоренко АС, винахідники; Українська медична стоматологічна академія, власник; Спосіб корекції гепатоцитів щурів трансплантацією кріоконсервованої плаценти на фоні асептичного запалення очеревини щурів Україна, патент на корисну модель UA № 134352. 2019 Травень 10. (*Особистий внесок здобувача – ідея та експериментальне обґрунтування*)

15. Відповідність змісту дисертації спеціальності, з якої вона подається до захисту. Дисертаційна робота Волошиної Олени Валеріївни відповідає спеціальності 222 – Медицина.

16. Характеристика здобувача, його творчий шлях у науці, ступінь його наукової зрілості тощо. Волошина Олена Валеріївна, 1985 року народження, освіта вища, у 2008 році закінчила медичний факультет Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» з відзнакою за спеціальністю "лікувальна справа". З 2008 по 2010 роки проходила інтернатуру з очною частиною на кафедрі внутрішніх хвороб та медицини невідкладних станів Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», із заочною частиною в Полтавській обласній клінічній лікарні ім. М.В. Скліфосовського. З 2010 по 2015 роки проходила підготовку в клінічній ординатурі при Вищому державному навчальному закладі України «Українська медична стоматологічна академія» за спеціальністю «Терапія». З вересня 2016 р. навчається у очній аспірантурі кафедри гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії.

За період навчання у аспірантурі здобувач набув теоретичні знання, уміння, навички та відповідні компетентності, передбачені освітньо-

науковою програмою підготовки докторів філософії в Українській медичній стоматологічній академії зі спеціальності 222 – Медицина, оволодів необхідними для здобувача освіти на рівні доктора філософії компетентностями, технікою лабораторних досліджень, методами планування, організації та проведення експериментів на тваринах, хірургічних втручань на них, узагальнення та аналізу одержаних результатів, підготовки оглядових та оригінальних публікацій, оформлення дисертаційної роботи.

Постійно поглиблює свої знання з гістології та суміжних дисциплін. У своїй роботі дотримується принципів біомедичної етики та академічної доброчесності.

Користується авторитетом у співробітників кафедри та студентів.

17. Результати перевірки на наявність неправомірних запозичень.

Українська медична стоматологічна академія має внутрішню систему перевірки академічних текстів на наявність запозичень. Академічні тексти перевіряються на основі Положення «Про порядок перевірки в Українській медичній стоматологічній академії текстових документів – магістерських, кандидатських і докторських дисертаційних робіт, звітів за науково-дослідними роботами, наукових публікацій, навчальної літератури, навчально-методичних видань та засобів навчання на наявність плагіату», що базується на чинному законодавстві України.

Публікації та дисертаційна робота Волошиної О.В. «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення» не містять виявлених текстових та інших запозичень.

ПОСТАНОВИЛИ:

На основі представленої дисертаційної роботи, прилюдного її обговорення, відповідей на запитання та відгуків офіційних рецензентів, учасники фахового семінару при Українській медичній стоматологічній академії вважають, що дисертаційна робота аспіранта Волошиної Олени

валеріївни на тему «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення» є закінченим науковим дослідженням, що розв'язує наукову задачу, яка полягає у з'ясуванні Робота відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії» від 6 березня 2019 р. № 167 та може бути представлена до офіційного захисту за спеціальністю 222 – Медицина.

Висновок прийнято одногосно.

Голова фахового семінару,

д. мед. наук, професор

О.М. Проніна

Секретар фахового семінару,

к.б.н., доцент

В.М. Соколенко

Рецензенти:

д.мед.наук, професор

Г.А. Єрошенко

д.мед.наук, професор

В.О. Костенко