

ВІДГУК

ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

**академіка НАН України, доктора медичних наук, професора,
директора Інституту проблем кріобіології і кріомедицини
НАН України**

Гольцева Анатолія Миколайовича

на дисертаційну роботу аспіранта кафедри гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України

ВОЛОШИНОЇ ОЛЕНИ ВАЛЕРІЇВНИ

«Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення»

представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 44.601.008 Української медичної стоматологічної академії, що утворена наказом МОН України від 18.08.20 р №1064 для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» (14.03.09 - Гістологія, цитологія та ембріологія)

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

Найбільша залоза травної системи – печінка, вважається «головною хімічною лабораторією» в організмі людини та унікальним органом, що виконує цілий ряд життєво необхідних функцій: дезінтоксикаційну, білоксинтезуючу, ендокринну, екзокринну, кровотворну, метаболічну, захисну, тощо. При порушенні структури гепатоцитів печінки, відбувається порушення функцій залози вцілому, що є однією з причин розвитку патологічних процесів в організмі та займає провідне місце в патогенезі асептичного запалення очеревини. Актуальним завданням, на

сьогоднішній день, є пошук шляхів корекції структури гепатоцитів та відновлення їх функціональної активності з метою нормалізації роботи цього важливого органа.

Запалення є універсальною фізіологічною реакцією на ушкодження, викликані інфекційними, токсичними, алергічними, фізичними і нейрогенними чинниками, яке завершується усуненням хвороботворної причини, регенерацією тканин і відновленням функцій органа.

Гостре асептичне запалення очеревини за пато- і морфогенезом суттєво відрізняється клінічними проявами від інших форм запалення і має досить високий відсоток летальності за рахунок ендотоксинів, які викликають поліорганну недостатність. Летальність від поліорганної недостатності, що розвивається при асептичному перитоніті складає від 76% до 100% та, на превеликий жаль, на протязі останніх років не має тенденції до зниження.

Використання препаратів кріоконсервованої плаценти при запальних процесах, згідно даних літератури, приводить до позитивних клінічних результатів та відновленню функціонального стану органів. Плацентарна тканина є джерелом біологічно активних сполук природного походження, здатних стимулювати репаративні процеси та підвищувати неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища. Однак, велика кількість клінічних та експериментальних даних не повністю розкриває механізми дії тканинної терапії, а їх недостатнє вивчення на сьогоднішній день створює необхідність подальших досліджень у даній області.

Таким чином, дисертаційна робота Волошиної О.В. «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення» є актуальною та відповідає сучасним напрямкам розвитку медичної науки.

ЗВ'ЯЗОК РОБОТИ З НАУКОВИМИ ПРОГРАМАМИ, ПЛАНАМИ, ТЕМАМИ

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 ембріофетоцелентарного комплексу (ЕФПК), дифереліну, етанолу та 1% ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряда внутрішніх органів” (№ державної реєстрації 0119U102925). Автор є співвиконавцем даної роботи.

СТУПІНЬ ОБҐРУНТОВАНOSTІ ТА ДОСТОВІРНOSTІ НАУКОВИХ ПОЛОЖЕНЬ ТА ВИСНОВКІВ, СФОРМУЛЬОВАНИХ У ДИСЕРТАЦІЇ

Сформульовані в дисертації положення та висновки базуються на достатній кількості експериментального матеріалу для отримання вірогідних результатів (140 білих щурах-самців масою 180-240 г.).

Усі проведені дослідження узгоджені Комісією з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії, не містять даних, які суперечать сучасним вимогам біоетики та морально-етичних норм. Робота виконана на метрологічно повіреній дослідницькій апаратурі з використанням сучасних загальногістологічних методів світлової та електронної мікроскопії, морфометричного та методу варіаційної статистики.

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. Достовірність отриманих результатів та висновків дисертаційної роботи засвідчується сучасними статистичними методами, проведеними з використанням програмного забезпечення, їх вірогідність не викликає сумнівів.

НОВИЗНА ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Дисертантом вперше за допомогою адекватних методів дослідження отримано морфологічну, електронно-мікроскопічну характеристики особливостей структурної перебудови гепатоцитів печінки інтактних щурів, після одноразового підшкірного введення кріоконсервованої плаценти та введенні її при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини з терміном експерименту 30 діб.

Встановлені зміни метричних параметрів (площа та діаметр клітин та ядер, ядерно-цитоплазматичне співвідношення) гепатоцитів в кожній експериментальній групі.

Отримані дисертантом дані свідчать, що при введенні кріоконсервованої плаценти піддослідним тваринам на ранніх термінах експерименту (1-а, 3-я доби) у печінці визначались реактивні зміни ультраструктури гепатоцитів та незначні зміни гемокапілярів, поступово відбувалась фізіологічна реакція структур гепатоцитів та кровоносних капілярів, де на 5, 7, 10-у доби експерименту виявились помірні зміни якісного та кількісного характеру.

Автором з'ясовано, що гостре експериментальне асептичне запалення очеревини виникало вже з перших діб експерименту, виражені зміни в структурі гепатоцитів виявлялися поступово, термінальна фаза запалення розвивалась на 7-10-у доби експерименту, морфологічна структура органу до 30-ої доби не досягала норми.

Дисертантом встановлено, що гепатоцити щурів починали відновлюватися під дією одноразового підшкірного введення

кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини вже на 10-14-у доби експерименту.

Доведено, що у пізні терміни дослідження (14, 21, 30-а доби) більшість гепатоцитів та гемокапілярів не мають відмін ультраструктурної організації від печінки тварин інтактної групи.

ТЕОРЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати дисертаційної роботи поглиблюють знання про мікроскопічну будову гепатоцитів у інтактних щурів, реакцію їх на одноразове підшкірне введення кріоконсервованої плаценти та введення її при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

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. 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.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

ДИСЕРТАЦІЙНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ В ПРАКТИЦІ

Результати дисертаційної роботи мають вагомим практичне значення. Отримані дані поглиблюють знання про мікроскопічну будову печінки в нормі і особливості реакції паренхіматозних та стромальних елементів на

вплив різних екзогенних чинників та можуть бути використані в курсах лекцій з анатомії людини, гістології, цитології та ембріології, патологічній анатомії, гастроентерології.

Одержані результати доцільно використовувати в клінічній практиці лікарів-гастроентерологів з метою удосконалення профілактики і комплексного лікування гепатитів.

ПОВНОТА ВИКЛАДЕННЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ В ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЯХ

Основні результати і нові наукові положення дисертації повністю опубліковані в наукових журналах, в матеріалах з'їздів та науково-практичних конференцій.

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.

СТРУКТУРА ТА ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

Дисертація Волошиної О.В. побудована за традиційним планом згідно вимог до оформлення дисертацій і викладена державною мовою на 171 сторінці тексту комп'ютерного набору. Дисертація містить анотацію, вступ, огляд літератури, описання матеріалів та методів дослідження, 3 розділи, в яких описані результати власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки дослідження, список використаної літератури. Робота ілюстрована 45 рисунками та 16 таблицями. Список літератури містить джерел 270 (кирилицею та латиницею).

У **Вступі** дисертантом логічно і послідовно обґрунтовано актуальність теми, доцільність проведення дослідження за темою роботи,

викладена мета та завдання, окреслені предмет та об'єкт дослідження. Автором чітко сформульована наукова новизна і практичне значення отриманих даних. У цьому розділі відображений особистий внесок дисертанта та кількість публікацій за темою дисертації, наведена інформація щодо проведення апробації дисертаційної роботи.

Розділ 1 «Сучасний погляд на морфологію та функцію гепатоцитів (огляд літератури)» викладений на 22 сторінках та складається з 6 підпунктів. Проведений автором аналіз літератури дозволив чітко сформулювати мету та завдання дослідження, визначити методи та шляхи вирішення завдань. В огляді літератури дисертант чітко описав наслідки негативної дії на організм людини та тварин асептичного запалення різної етіології, особливо на структуру та функцію клітин печінки, а також визначив стан розробки методів профілактики та корекції порушень, які виникають внаслідок дії таких факторів. А саме використання кріоконсервованої плаценти, як джерела біологічно активних речовин для корекції різноманітних патологій внутрішніх органів, кісток, патології органів ротової порожнини.

У **Розділі 2** «Матеріали і методи дослідження» наведений детальний дизайн дослідження, описуються застосовані ним гістологічні, морфометричні методики та використане обладнання, а також статистичні методи оцінки достовірності отриманих результатів. Наданий список публікацій за темою розділу.

В **Розділах 3, 4 та 5** дисертації детально викладені результати власних досліджень.

В **Розділі 3** „Морфофункціональна характеристика гепатоцитів у інтактних щурів та при введенні кріоконсервованої плаценти” встановлено, що будова структурних компонентів часточок печінки білих щурів інтактною групи, а саме гепатоцитів та кровоносних капілярів не має

видових особливостей та подібна гепатоцитам людини. Середній діаметр гепатоцитів складає $26,412 \pm 0,324$ мкм (великий діаметр) та $16,355 \pm 0,325$ мкм (малий діаметр), площа їх становить $1364,225 \pm 35$ мкм, ядерно-цитоплазматичний індекс (IG_S) $0,196 \pm 0,006$. Середні показники ядер гепатоцитів становлять: великий діаметр - $9,976 \pm 0,094$ мкм, малий діаметр - $7,881 \pm 0,134$ мкм, площа - $249,304 \pm 5,861$ мкм. Кількість одноядерних гепатоцитів коливається в межах $91,43 \pm 0,55$, багатоядерних - $8,57 \pm 0,55$.

При введенні щурам ККП змінюється 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. Визначаються також 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.

Розділ 4 „Морфофункціональний стан гепатоцитів щурів при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини” присвячений особливостям морфофункціонального стану гепатоцитів на

тлі гострого асептичного запалення очеревини. 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 каріолізісу. 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 і 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 %.

В Розділі 5 «Морфофункціональний стан гепатоцитів печінки щурів при корекції ГЕАЗО введенням кріоконсервованої плаценти» наведені данні, стосовно особливостей відновлення стану гепатоцитів при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення. 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 визначалася 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 збільшувався на 47 % ($p < 0,001$) і відновлювався до 30-ї доби. Середня площа клітин змінювалась недостовірно. Показники середньої площі ядер гепатоцитів на 5-у добу спостереження на 32 % ($p < 0,001$) перевищували значення в інтактній групі щурів і до 30-ї доби вірогідно від значень в інтактній групі не відрізнялися. Кількість багатоядерних гепатоцитів вірогідно не змінювалася протягом спостереження.

В цілому розділи 3, 4 та 5 вагомим зауважень не мають. Розділи ілюстровані достатньою кількістю якісних рисунків та інформативних таблиць.

У **Розділі 6** «Аналіз результатів дослідження» дисертант змістовно і глибоко аналізує отримані результати роботи та порівнює їх з результатами інших дослідників, після чого автором висловлюється власна точка зору, завдяки чому і формується практична значущість отриманих результатів. Матеріали, наведені в даному розділі, зміст розділу і стиль викладення свідчать про вміння дисертанта аналізувати та порівнювати результати наукових досліджень. Розділ викладено на 18 сторінках та містить 10 рисунків.

На підставі отриманих результатів дисертантом сформульовано сім висновків, які логічно витікають з аналізу та обговорення отриманих

результатів, повністю відповідають положенням, що були визначені в меті і завданнях роботи, відображають основний зміст роботи та є підсумком усього проведеного дослідження.

Два додатки містять наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації та наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації; акти впровадження результатів дисертаційного дослідження у навчальний та науково-педагогічні процеси, лекційні курси кафедр вищих державних медичних навчальних закладів України (загалом 4 акти впровадження). Таким чином, дисертація побудована за класичною схемою, містить усі необхідні розділи і в цілому є завершеною науковою працею.

НЕДОЛІКИ ДИСЕРТАЦІЇ ЩОДО ЇЇ ЗМІСТУ І ОФОРМЛЕННЯ

За результатами аналізу дисертаційної роботи Волошиної О.В. слід зазначити її важливість та значущість для сучасної гістології, цитології та ембріології. Між тим, визнаючи здобутки дисертаційного дослідження, є необхідним висловити і деякі зауваження, які не є принциповими та не знижують якість дисертаційної роботи.

У тексті дисертації зустрічаються поодинокі граматичні помилки, невдалі стилістичні вислови, друкарські помилки.

Недоцільним є використання аббревіатур скорочень у висновках дисертації. Це ускладнює їх сприймання.

В розділі «Матеріали та методи» потрібні уточнення стосовно обґрунтування вибору дозування речовин в різних групах тварин при проведенні експерименту з посиланням на літературні джерела.

В порядку дискусії прошу відповісти на деякі запитання:

1. Яка була методика зберігання кріоконсервованої плаценти?

2. Чому ви використовували саме кріоконсервовану плаценту в дослідженні як чинник прискорення реалізації запального процесу?

ВИСНОВОК

Розглянувши наукові публікації зараховані за темою дисертації, саму дисертаційну роботу Волошиної Олени Валеріївни «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення» на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», вважаю, що робота є завершеною працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, які надають нові уявлення про особливості структурної перебудови гепатоцитів печінки інтактних щурів, після одноразового підшкірного введення кріоконсервованої плаценти та введенні її при гострому експериментальному асептичному запаленні очеревини.

Проаналізувавши дисертаційну роботу, стає зрозумілим, що здобувач набув достатньо теоретичних знань, умінь, навичок та інших компетентностей, достатніх для продукування нових ідей, розв'язання комплексних проблем у галузі дослідницької діяльності, оволодів методологією наукової та педагогічної діяльності, провів власне наукове дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення.

За актуальністю, сучасним методичним рівнем виконання, новизною і практичним значенням отриманих результатів, обґрунтованістю наукових положень і висновків, їх достовірністю та повнотою викладу в опублікованих працях, дисертаційна робота **Волошиної Олени Валеріївни «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів**

печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення» повністю відповідає пп. 10, 11 «ПОРЯДКУ проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 6 березня 2019 р., відносно дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина», а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії.

академік НАН України,
доктор медичних наук, професор,
директор Інституту проблем
кріобіології і кріомедицини НАН України

Гольцев А. М.

