

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора ГУДІМИ Арсена Арсеновича, завідувача кафедри екстреної та симуляційної медицини Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, на дисертаційну роботу ОЛІЙНИК Юлії Михайлівни «Механізми ушкодження та регенерації тканини печінки і нирок щурів в умовах хронічного токсичного ураження тетрахлорметаном і етанолом, шляхи корекції», подану у спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.067, що утворена згідно до наказу в.о. ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова № 26 від 22 лютого 2023 року на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М.І. Пирогова № 103 від 21 лютого 2023 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Ступінь актуальності обраної теми.

Однією з важливих проблем сучасного урбанізованого суспільства є постійно зростаючий вплив ксенобіотиків на організм людини. Новостворених синтетичних сполук у світі нараховують понад 1 мільйон. Значна частина з них безконтрольно потрапляє в довкілля і здійснює вплив через продукти харчування, питну воду і повітря. Серед них варто виділити хімічні речовини, які використовуються у промисловості та сільському господарстві. Незважаючи на суворі гігієнічні норми, у ряді країн, в т.ч. в Україні не завжди дотримують відповідних регламентів на виробництві, має місце безконтрольне і часто необґрунтоване застосування сільськогосподарських отрутохімікатів, пестицидів, а також безконтрольне вживання медикаментів. Якщо додати широке поширення наркоманії та алкоголізму, епідемію вірусних гепатитів, то можна зробити висновок, що організм певних категорій населення піддається постійному токсичному впливу, який на фоні скомпроментованої вірусним гепатитом печінки може призвести до хронізації процесу з розвитком фіброзу та цирозу печінки. У цьому процесі патогенетично пов'язана й функція нирок. Як справедливо зазначає автор, хронізація патологічного процесу в печінці супроводжується одночасними й морфофункціональними порушеннями нирок. Тому в дисертаційній роботі на класичній моделі хронічного токсичного впливу тетрахлорметану та етанолу одночасно досліджують маркери ураження печінки і нирок.

Незважаючи на численні роботи, присвячені формуванню гепаторенального синдрому, автор зупиняється на недостатньо вивчених аспектах цієї проблеми, а саме на ремоделюванні сполучної тканини, ролі в цих процесах трансформуючого та інсуліноподібного факторів росту, а також показників клітинного циклу в печінці та нирках за хронічного токсичного гепатиту. Практично немає даних про вплив на ці показники одного із відомих гепато- і нефропротекторів, який володіє антифіброзною дією, лізиноприлу, що вимагало спеціального дослідження.

Все вищесказане вказує на достатній ступінь актуальності дисертаційної роботи Олійник Ю.М.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Дисертаційна робота та наукові публікації Олійник Ю.М. ґрунтуються на результатах експериментів, в яких використано сучасні методики досліджень та статистичного аналізу, які відповідають поставленій меті і завданням дослідження та дозволяють повністю їх реалізувати, що вказує на високий науковий рівень дисертації та наукових публікацій здобувача.

3 Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

У дисертації показано, що в результаті моделювання хронічного токсичного гепатиту, викликаного тривалим поєднаним введенням тетрахлорметану та етанолу, виникає розвиток фіброзу, свідченням чого є морфологічні порушення та зростання в печінці та нирках вмісту вільного оксипроліну, збільшення в сироватці крові рівнів загального, вільного та пептидозв'язаного гідроксипроліну.

Вперше показано, що хронічний токсичний гепатит зумовлює вірогідне зростання в сироватці крові вмісту трансформуючого та інсуліноподібного факторів росту, який статистично вірогідно прямо корелює з маркером фіброзу: вмістом вільного гідроксипроліну в печінці, нирках та сироватці крові, що доводить вагому роль досліджуваних факторів росту в патогенезі

формування фіброзу печінки та нирок.

Вперше встановлено, що за умов хронічного токсичного гепатиту реєструється збільшення плоідності ДНК ядер клітин печінки, індукція апоптозу гепатоцитів та клітин кіркового шару нирок, зростання індексу проліферації клітин печінки та його зменшення в клітинах нирок, що статистично вірогідно і прямо корелює з вмістом досліджуваних факторів росту.

Вперше отримано нові дані, які додатково підтверджують гепато- і нефропротекторні, а також антифіброзні властивості лізиноприлу за умов хронічного токсичного гепатиту на основі не тільки позитивної динаміки морфологічної картини печінки та нирок, але й зменшення вмісту вільного гідроксипроліну в печінці й нирках, а також усіх фракцій гідроксипроліну в сироватці крові, вірогідного зниження вмісту сироваткових рівнів трансформуючого та інсуліноподібного факторів росту, а також вираженої антиапоптотичної дії, зменшення ступеня поліплоїдії клітин печінки, антипроліферативної активності в печінці і посилення проліферації клітин нирок.

Вперше показано, що препарат порівняння L-аргінін L-глутамат значно поступається лізиноприлу за гепато- та нефропротекторною дією.

За матеріалами дисертації опубліковано 24 наукові праці: 8 статей, з них 5 – у фахових наукових журналах України, 2 – у закордонних наукометричних виданнях; 1 патент України на корисну модель; 15 тез – у матеріалах з'їздів, конгресів та конференцій, в яких висвітлені основні положення дисертаційної роботи Олійник Ю.М., що є достатнім для здобуття наукового ступеня доктора філософії.

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

Результати, наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації, ґрунтуються на експериментальних дослідженнях, в яких використано 96 білих нелінійних лабораторних статевонезрілих щурів-самиць з масою 60-80 г.

У першу групу увійшли інтактні щурі. У дослідну групу 2 увійшли щурі, яким моделювали з хронічний токсичний гепатит шляхом інтрагастрального

введення 20 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень у комбінації з 5 % розчином етанолу протягом 8 тижнів. У дослідній групі 3 щурам на тлі моделювання хронічного гепатиту проводили корекцію інгібітором ангіотензинперетворюючого ферменту лізиноприлом, який вводили інтрагастрально у дозі 20 мг/кг/добу. У дослідній групі 4 в аналогічній ситуації проводили корекцію препаратом порівняння L-аргініном L-глутаматом в дозі 35 мг/кг/добу.

Усі експерименти проведені відповідно до вимог біоетики та морально-етичних норм, що засвідчено висновком комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол (№ 8 від 05.09.2018 та протокол № 10 від 02.12.2021).

Отримані результати статистично оброблені із використанням сучасного програмного забезпечення і відповідають об'єму та характеру проведеного дослідження. Робота виконана на метрологічно повіреній дослідницькій апаратурі та інструментах. Все це дозволяє у повному обсязі вирішити мету і завдання дослідження та сформулювати основні наукові положення, які знайшли своє відображення у наукових публікаціях.

Отже, отримані автором результати, наукові положення, висновки і рекомендації, сформульовані в дисертації Олійник Ю.М. науково обґрунтовані і характеризуються достатнім рівнем статистичної значущості.

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

У дисертаційній роботі Олійник Ю.М. використані сучасні методики наукоємкі досліджень, які включали визначення маркерів метаболізму сполучної тканини, а саме концентрації вільного, зв'язаного та сумарного гідроксипроліну у сироватці щурів, вільного гідроксипроліну в печінці та нирках; визначення факторів росту, а саме рівнів трансформуючого та інсуліноподібного факторів росту у сироватці крові тварин з використанням імуноферментного методу; вивчення фаз клітинного циклу, фрагментації та плоідності ядерної ДНК клітин печінки і нирок цитофлуориметричним методом, а також аналіз ступеня ушкодження та репаративної регенерації печінки і нирок щурів шляхом світлооптичної мікроскопії.

Зазначений наукових підхід до вирішення поставленої мети та завдань дослідження дозволив автору по-новому підійти до вивчення механізмів формування фіброзу печінки за умов хронічного токсичного гепатиту і поглибити розуміння механізмів впливу антифіброзної та гепато- і нефропротекторної дії лізиноприлу.

Все вищенаведене дозволяє стверджувати, що в ході праці над виконанням дисертаційної роботи Олійник Ю.М. набула компетенцій науково-дослідної діяльності.

6. Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.

Отримані автором результати суттєво розширюють існуючі уявлення про молекулярні механізми формування фіброзу печінки та нирок за умов хронічного токсичного ураження тетрахлорметаном та етанолом, зокрема показують роль порушень концентрації факторів росту та клітинного циклу в патогенезі фіброзоутворення. Отримані нові дані щодо антифіброзної активності лізиноприлу є додатковим патогенетичним обґрунтуванням його застосування в корекції хронічних токсичних уражень печінки та нирок.

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету, кафедри медицини катастроф та військової медицини Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому.

Дисертація Олійник О.М. викладена державною мовою на 178 сторінках і містить анотацію українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, три розділи власних досліджень, розділ аналіз і узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел та додатки. Роботу проілюстровано 43 рисунками та 14 таблицями. Список використаних джерел, що налічує 317 найменувань, з них 106 – кирилицею і 211 – латиницею.

Анотації оформлено згідно з вимогами, вони містять стислу інформацію про основні положення дисертації.

У вступі дисертантка коротко характеризує стан проблеми, доводить її актуальність, формулює невивчені питання, формулює робочу гіпотезу, мету, завдання, зазначає об'єкт та предмет дослідження.

В розділі 1 (Огляд літератури) автор висвітлює сучасні уявлення про механізми гепато- і нефротоксичності тетрахлорметану та етанолу, дає характеристику ренін-ангіотензин-альдостероновій та іншим сигнальним системам у механізмах розвитку і прогресування хронічних захворювань печінки, наводить дані про сучасні напрямки фармакотерапії фіброзу печінки. На закінчення розділу автор формулює основні невивчені питання, що лягли в основу дисертаційної роботи.

В розділі 2 (Матеріали і методи дослідження) автор наводить дизайн досліджень, формування дослідних груп, підбір експериментальних моделей, детально зупиняється на методиках біохімічних, імуноферментних, цитофлуориметричних та морфологічних досліджень, описує методи статистичного аналізу отриманих результатів.

У розділі 3 наведено результати вивчення біохімічних маркерів фіброзу: фракцій гідроксипроліну в сироватці крові, печінці й нирках щурів, а також рівні трансформуючого та інсуліноподібного факторів росту в сироватці крові та їх зв'язок з показниками метаболізму колагену в печінці, нирках й сироватці крові щурів за хронічного токсичного гепатиту та ефективність корекції лізиноприлом і L-аргініном L-глутаматом.

У розділі 4 наведено результати дослідження фаз клітинного циклу, плоідності й фрагментації ядерної ДНК в печінці та нирці щурів, їх зв'язку з рівнем досліджуваних факторів росту сироватки крові за хронічного токсичного гепатиту та його корекції лізиноприлом і L-аргініном L-глутаматом.

Розділ 5 містить дані про морфологічні зміни тканин печінки та нирок щурів за експериментального хронічного токсичного гепатиту та його корекції.

Усі розділи ілюстровані таблицями та діаграмами із наведеними результатами та їх статистичної обробки. Усі розділи завершуються проміжними висновками, а також посиланнями на власні публікації, в яких вони висвітлені. Слід відмітити, що результати, які наведені в усіх розділах знайшли своє відображення у статтях або тезах.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» побудований у вигляд дискусії. Дисертантка спершу коротко наводить результати, далі дає їм інтерпретацію, порівнює з результатами інших авторів, робить припущення та висновки.

Чотири висновки повністю відповідають поставленим завданням дослідження, в яких спершу автор формулює вставлену закономірність чи факт, який дисертантка підтверджує ключовими статистично вірогідними результатами.

Таким чином, у дисертаційній роботі Олійник Ю.М. висвітлені усі результати та сформульовані висновки, які відповідають поставленій меті і завданням дослідження, що вказує на завершеність цієї науково-дослідної праці.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

У дисертації Олійник Ю.М. отримано нові дані щодо ефективності застосування лізиноприлу з метою гепато-і нефропротекції, розкрито його нові механізми антифіброзної дії, що націлює на ширше застосування цього лікарського засобу за умов хронічних гепатитів у клініці. Отримані автором нові знання щодо патогенезу фіброзоутворення в печінці та нирках за умов хронічного токсичного гепатиту можуть бути використаними в навчальному процесі при вивченні патофізіології печінки та фармакології гепатопротекторів, а також у науково-дослідницькій діяльності при пошуку механізмів та засобів профілактики гепаторенального синдрому.

9. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.

Дисертаційна робота Олійник Ю.М. за змістом та оформленням відповідає існуючим вимогам. Однак дисертантці варто було б звернути увагу на наступне:

1. Автор виносить у наукову новизну зростання вмісту метаболітів сполучної тканини за умов хронічного токсичного ураження печінки. Це відомий факт, проте його позитивний вірогідний зв'язок з сигнальними молекулами дійсно є пріоритетом даної роботи.

2. У розділі 2 «Матеріали та методи досліджень» занадто детально описані методики біохімічних досліджень, імуноферментних та цитофлуориметричних досліджень. Доцільніше вказати лише принцип методу та дати посилання на автора.

3. У роботі зустрічаються окремі повтори даних діаграм і таблиць.

4. У роботі зустрічаються поодинокі невдалі стилістичні вирази.

Усі наведені зауваження носять рекомендаційний і дискусійний характер і не зменшують наукової новизни, теоретичного і практичного значення отриманих автором результатів.

У порядку дискусії хотілося б почути в автора про таке:

1. Чому експерименти виконані на статевонезрілих самках білих щурів?

2. Як автор може пояснити вплив лізиноприлу на динаміку досліджуваних факторів росту, його антиапоптотичну дію, зменшення ступеня плоідності клітин печінки, антипроліферативну активність в печінці і посилення проліферації клітин нирок? Яке це має теоретичне і практичне значення?

3. Чому як препарат порівняння використано саме L-аргініну L-глутамат?

4. Чи не розглядав автор доцільність дослідження ефективності поєданого застосування лізиноприлу та L-аргініну L-глутамату?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Ознак порушень принципів академічної доброчесності у дисертаційній роботі Олійник Ю.М. не виявлено. Проведена первинна експертиза на наявність плагіату в дисертаційній роботі за допомогою відповідного програмного забезпечення, засвідчила оригінальність текстових даних, поданих у роботі. Це дозволяє стверджувати про відсутність академічного плагіату, фальсифікації та інших порушень академічної доброчесності.

Усі ідеї та положення, викладені Олійник Ю.М. у дисертаційній роботі, належать автору.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Олійник Юлії Михайлівни «Механізми ушкодження та регенерації тканини печінки і нирок щурів в умовах

хронічного токсичного ураження тетрахлорметаном і етанолом, шляхи корекції» є завершеною науково-дослідною роботою, в якій встановленні нові механізми пошкодження та регенерації тканин печінки й нирок щурів за умов хронічного токсичного ураження тетрахлорметаном й етанолом, на основі яких обґрунтовано доцільність використання лізіноприлу з метою гепато- та нефропротекції. Робота оформлена згідно з вимогами до оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України від 12.01.2017 р № 40.

За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним і практичним значенням, обсягом виконаних досліджень дисертація відповідає вимогам, передбаченим пунктами 6-8 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 12.01.2022 р. № 44, які висуваються до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня доктора філософії, а її авторка Олійник Юлія Михайлівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:
завідувач кафедри екстреної та
симуляційної медицини Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

Особистий підпис

заступник ректора з кадрових питань
Тернопільського національного університету
медичного університету



Гудима А. А.