

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора медичних наук, професора ЗВО кафедри медичної біології, фармакогнозії, ботаніки та гістології Дніпровського державного медичного університету Твердохліба Ігоря Володимировича на дисертацію аспірантки кафедри гістології ВНМУ ім. М. І. Пирогова Галаган Юлії Василівни на тему: «Структурні зміни печінки щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії (експериментальне дослідження)», подану до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 05.600.079, що утворена згідно наказу в.о. ректора ЗВО Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова № 108 від 30 червня 2023 р. на підставі рішення Вченої ради ВНМУ ім. М. І. Пирогова № 9 від 29 червня 2023 року з правом прийняття до розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

1. Ступінь актуальності обраної теми.

Актуальність дослідження структурних перебудов печінки за умов хронічного впливу гіпергомоцистеїнемії, є незаперечною. Гіпергомоцистеїнемія — це стан, що характеризується підвищеним рівнем гомоцистеїну в крові і визнається окремим захворюванням, в основному через дисфункцію ферментів і кофакторів метаболізму гомоцистеїну. На додаток до генетично обумовлених дефектів, гіпергомоцистеїнемія може бути спровокована факторами харчування, дефіцитом вітамінних кофакторів у харчуванні, шкідливими звичками або певними ліками. Причинами дефіцитних станів виступають захворювання шлунково-кишкового тракту, при яких спостерігається зниження всмоктування вітамінів. Відомо також, що онкологічні захворювання, такі як рак молочної та підшлункової залоз, яєчників, лімфобластний лейкоз супроводжуються станом гіпергомоцистеїнемії, оскільки злякисні клітини відрізняються високою мітотичною активністю, потребуючи значної кількості метильних груп. Зазначені вище фактори належать до модифікуючих та зумовлюють тимчасову гіпергомоцистеїнемію.

Вивченню патогенетичної дії підвищеного рівня гомоцистеїну в плазмі крові призначено багато робіт, однак і до сьогодні це питання залишається не повністю розкритим. Серед основних механізмів негативної дії хронічної гіпергомоцистеїнемії слід зазначити активацію оксидативного стресу, експресію медіаторів запалення та фіброзу, гальмування процесів метилювання, гомоцистеїнування білків. Гіпергомоцистеїнемія також пов'язана зі старінням: незалежні дослідницькі групи виявили, що рівень

гомоцистеїну в крові статистично підвищується кожні 10 років після 60 років.

Отже, можна зробити висновок, що вплив підвищеного рівня гомоцистеїну є комплексним і поширюється на багато органів. Не дивлячись на значні досягнення сучасної науки у вивченні ролі гомоцистеїну в патогенезі багатьох захворювань внутрішніх органів, на сьогоднішній день відкритим залишається питання щодо змін структури печінки на світлооптичному та електронномікроскопічному рівнях. Роботи, що існують розкривають лише певні функціональні зміни органу, не демонструючи при цьому особливостей її морфологічного ураження.

Таким чином, дисертаційна робота Галаган Юлії Василівни на тему: «Структурні зміни печінки щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії (експериментальне дослідження)» є своєчасною та актуальною для медицини.

2. Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача.

Дисертаційна робота Галаган Юлії Василівни виконана на високому науковому рівні. Здобувачкою доведена актуальність обраної теми досліджень, здійснено ґрунтовний розгляд та аналіз даних вітчизняних та закордонних дослідників у напрямку тематики дисертаційної роботи. Проведена достатня кількість спостережень та отримані результати, які дозволили визначити зміни структури печінки щурів різного віку, що поглиблюються на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії. Основні положення та висновки дисертації належним чином обґрунтовані, апробовані на вагомих фахових наукових форумах та чітко відповідають отриманим результатам.

Усі наукові праці за результатами дисертаційного дослідження (загальна кількість яких 11, з них 7 – самостійні) відповідають існуючим вимогам до публікацій на здобуття ступеня доктора філософії, пройшли відповідну експертну оцінку та опубліковані у фахових наукових виданнях належного рівня: 3 статті – в наукових фахових журналах України; 3 статті – в закордонних наукових журналах (у тому числі у журналі, який відноситься до міжнародної наукометричної бази Scopus) та 5 тез в матеріалах міжнародних науково-практичних конференцій.

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

Новизна отриманих результатів дослідження не викликає сумніву.

Вперше встановлено, що у молодих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії виявляються деструктивні зміни в печінці, які розвивались на тлі порушення

кровопостачання. В більшості гепатоцитів спостерігалась вакуольно-гідропічна та жирова дистрофія. У зрілих тварин виявлялись більш виражені структурні зміни в органі, порівняно з молодими тваринами, подекуди зустрічались осередки некрозу паренхіми печінки; були наявні явища гіпертрофії та гіперплазії гладких міоцитів в середній оболонці та фіброз зовнішньої оболонки стінки міжчасточкових артерій, лейкоцитарна інфільтрація в порталних трактах. Найбільш виражені зміни були у старих щурів: фіброз органу, зростання вмісту колагенових волокон в перисинусоїдальних просторах, у цитоплазмі гепатоцитів виявлено яскраво виражену жирову дистрофію; осередки некрозу гепатоцитів були більшими, ніж у тварин інших експериментальних груп. Глибокі структурні зміни виявлялись в мікроциркуляторному руслі печінки.

Уперше на електронно-мікроскопічному рівні встановлено, що при експериментальній гіпергомоцистеїнемії кристи мітохондрій гепатоцитів печінки молодих щурів подекуди деструктуровані, відмічалась проліферація жиронакопичувальних клітин. в просвітах синусоїдів були розташовані зірчасті макрофагоцити, лейкоцити, спостерігались складжі еритроцитів і тромбоцитів. У тварин зрілого віку ультраструктурні зміни в гепатоцитах, ендотеліоцитах стінок синусоїдів, зірчастих макрофагоцитах мали дистрофічний та деструктивний характер. Спостерігалась трансформація жиронакопичувальних клітин в фібробласти. В печінці старих щурів відбувались зміни в усіх структурних компонентах. Порушення структури ендотеліоцитів призводило до посилення адгезії тромбоцитів, еритроцитів і лейкоцитів. Посилювались складжі еритроцитів в просвітах синусоїдів, зростала чисельність зірчастих макрофагоцитів і збільшувалась їх міграція в пересинусоїдні простори. Менша кількість жиронакопичувальних клітин вказувала на їх трансформацію в фібробласти, що призводило до розростання колагенових волокон, розширення пересинусоїдних просторів та потовщення бар'єру між кров'ю і гепатоцитами, порушення транспорту речовин, гіпоксії, та створювало умови для розвитку гідропічної, і жирової дистрофії гепатоцитів.

Вперше при біохімічному дослідженні крові та гомогенатів печінки щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії встановлено, що патогенез даного патологічного процесу супроводжується протеолітичним дисбалансом у печінці, який виявляється у підвищенні загальної протеолітичної активності, активності серинових протеаз і особливо активності метало-залежних ферментів. Зростання рівня MMP-1, MMP-2 і MMP-3 вказує на участь цих ферментів в посиленні протеолізу, опосередкованого метало-залежними ферментами.

В опублікованих працях дисертанткою представлені у повному обсязі усі отримані результати досліджень.

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

Дисертація виконана із залученням достатньої кількості тварин – 64 білих безпородних щурах-самцях (перманентна вага – 61-335 г), що отримані з віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Авторкою сформовано дві однорідні групи досліджень – контрольна та дослідна, які, в свою чергу, були поділені на підгрупи в залежності від віку, а саме – молоді щури віком 1-2 місяці, дорослі щури – 6-8 місяців, старі щури – 24-26 місяців. Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили, використовуючи комп'ютерні програми Origin 7.0, TotalLab 2.01. та Microsoft Excel. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$. Сумніву щодо достовірності отриманих результатів не виникає. Результати досліджень були узагальнені та проаналізовані, відображені у відповідних розділах дисертації. Обґрунтування актуальності обраної теми дисертації, методів дослідження, опис сучасного стану проблеми дослідження, аналітичне обговорення отриманих результатів з подальшим формуванням основних положень, висновків проведено на високому рівні з використанням достатньої кількості відповідних джерел наукової літератури – загалом 220 публікацій, з яких 154 викладені латиницею. Висновки дисертації відповідають отриманим результатам та є достатньо науково обґрунтованими.

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

Основним науковим завданням дисертаційної роботи було встановити особливості морфологічних та біохімічних змін печінки щурів за умов гіпергомоцистеїнемії залежно від віку.

Дисертанткою застосовані загально визнані методи дослідження, які дозволяють отримати результати відповідні завданням дослідження: гістологічний та гістохімічний – проведені для дослідження мікроскопічних змін структури печінки; електронно-мікроскопічний – для визначення ультрамікроскопічних проявів реактивних змін у печінці щурів; біохімічний – для об'єктивної оцінки перебігу адаптивних та деструктивних процесів в печінці щурів за умов експерименту. На високому рівні виконана обробка отриманих результатів методами математичної статистики для забезпечення передбачених описовою статистикою процедур визначення статистичної значущості розбіжностей між групами порівняння. Так само на високому

науковому рівні здобувачка здійснила аналіз та узагальнення результатів дослідження з публікаціями у фахових наукових виданнях.

Таким чином, дисертантка показала високий рівень володіння методологією наукової діяльності. Поставлене у дисертації наукове завдання досягнуто повністю.

6. Теоретичне і практичне значення отриманих результатів дослідження.

Отримані результати розширюють існуючі знання та надають нових відомостей стосовно розвитку негативних гісто-, ультраструктурних та біохімічних змін структури печінки, що зумовлює необхідність в подальшому продовження досліджень щодо використання відповідних корегуючих заходів. Результати досліджень впроваджені в лекційні курси та матеріали проведення практичних занять кафедр: гістології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; гістології, гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка; гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету.

7. Оцінка змісту дисертації, її завершеність в цілому.

Дисертація викладена українською мовою на 172 сторінках і складається з анотації українською та англійською мовами, зазначення її, переліку умовних позначень, символів і термінів, вступу, огляду літератури, розділу загальної методики й основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень дисертанта, розділу аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел наукової літератури та додатків. Дисертація добре ілюстрована: містить 52 рисунка та 7 таблиць.

Оформлена дисертація у відповідності до вимог до рукопису дисертації на здобуття ступеня доктора філософії.

В анотаціях зазначена вирішена науково-практична задача, викладені отримані основні результати та положення дисертаційної роботи, з акцентом на їх новизну, практичне значення проведеного дослідження.

У вступі висвітлені актуальність теми дослідження, його мета та завдання, об'єкт, предмет та методи дослідження, зв'язок теми з науковими програмами, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, вказана апробація матеріалів дисертації та особистий внесок здобувачки у її виконанні, наведені дані щодо виданих публікацій.

У розділі огляду літератури, що складається з двох підрозділів, авторка

розглядає сучасні знання щодо особливостей морфологічних змін печінки в процесі онтогенезу, обговорює існуючі дані щодо ролі гомоцистеїну в патогенезі виникнення та прогресування уражень внутрішніх органів.

У розділі загальної методики і основних методів дослідження детально описані загальна методика та об'єкти дослідження, описані застосовані лабораторні та біохімічні методики, та розглянуті використані гістологічні, ультраструктурні і гістохімічні методики та методи статистичного аналізу результатів дослідження.

Результати виконаних особисто здобувачкою досліджень відображені у трьох розділах дисертації.

Так, у третьому розділі, авторка описує саме встановлені біохімічні зміни печінки щурів різного віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Зокрема, визначено, що стан хронічної гіпергомоцистеїнемії супроводжується протеолітичним дисбалансом у печінці, який виявляється у підвищенні загальної протеолітичної активності, активності серинових протеаз і особливо активності метало-залежних ферментів. За результатами, представленими в даному розділі дисертації, здобувачкою опублікована стаття в журналі, що відноситься до міжнародної наукометричної бази Scopus та одних тезах науково-практичної конференції. Розділ інформативно проілюстрований сіма таблицями та трьома рисунками.

Результати дослідження морфологічного стану структурних компонентів печінки щурів різних вікових груп за умов експериментальної гіпергомоцистеїнемії представлені у четвертому розділі дисертації. Детальне вивчення змін мікроскопічної будови печінки піддослідних тварин при тривалому підвищенні рівня гомоцистеїну дозволяє зробити висновок про значний вплив даного фактору на структурні компоненти печінки, глибина яких посилюється з віком, що проявляється розвитком фіброзу, судинними порушеннями, а також глибокими дистрофічно-некротичними змінами органу. Розділ містить 18 рисунків. За даними результатами здобувачем опубліковані дві статті у фахових наукових журналах України і трьох тезах науково-практичних конференцій.

Важливим в сенсі розуміння повноти картини морфологічних перебудов в печінці на тлі гіпергомоцистеїнемії є п'ятий розділ, в якому якраз наведені дані щодо ультраструктурних змін печінки щурів різного віку за визначених умов. Розділ містить 30 рисунків. Результати досліджень, викладені у цьому розділі, опубліковані у статті в фаховому науковому журналі України, двох статтях у закордонному фаховому виданні та одних тезах науково-практичної конференції.

У заключному, шостому розділі дисертації здобувачкою проаналізовані

та узагальнені власні результати досліджень. Розділ викладений науково грамотно, послідовно, з необхідним використанням співставлення власних результатів з існуючими результатами інших фахівців.

Висновки дисертації сформульовані чітко, відповідно до поставлених завдань, базуються на достовірному фактологічному матеріалі, аргументовані і не викликають зауважень.

Наведений список використаних джерел наукової літератури містить 220 найменувань.

Перелік наукових публікацій з основними результатами дисертації та наукових публікацій, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації, так само як і акти впровадження матеріалів дисертації (4 акти впровадження) наведені у додатках.

Дисертація в цілому є завершеною науковою працею.

8. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Результати дисертаційного дослідження рекомендуються для використання в науковій, навчальній діяльності профільних кафедр гістології, цитології та ембріології, а також біохімії закладів вищої медичної освіти України, під час написання фахових публікацій, монографій.

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

Під час опрацювання дисертації суттєвих зауважень щодо оформлення та змісту дисертації, які впливали б на оцінку отриманого фактологічного матеріалу, його інтерпретацію, теоретичні узагальнення та висновки немає. Виникло декілька зауважень, які не впливають на загальну позитивну оцінку роботи:

1. Помилки перекладу (наприклад, «мілкими клітинами» замість «дрібними клітинами») або неточності вживання термінології (наприклад, поряд із «гладкою ендоплазматичною сіткою» можна зустріти «гладеньку ендоплазматичну сітку») не мають систематичного характеру та навіть з окремими синтаксичними похибками не заважають сприйняттю наданої інформації.

2. Перелік ключових слів в анотації – досить деталізований, але жодне з 19 слів (14 визначальних словосполучень) не орієнтує читача на те, що робота взагалі містить морфологічні дані.

3. У розділі, який спрямований на аналітичний огляд наукової літератури, надані відомості про ембріогенез печінки, але спроба використати

їх для інтерпретації отриманих у дисертації результатів відсутня. З іншого боку, огляд літератури взагалі не містить інформації про патоморфологію печінки за умов численних розладів та у відповідних експериментальних моделях. Частково цей дефіцит компенсований автором у розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» з наведенням окремих першоджерел.

Також виникло декілька запитань до дисертанта:

1. Наведені у дисертації висновки чітко та цілком обґрунтовано відповідають завданням дослідження. Хотілося б отримати пояснення здобувача, з яких мотивів послідовність викладення результатів за розділами власних досліджень відхиляється від обраної класичної траєкторії.

2. Впродовж останніх двох років у світі загострилася дискусія щодо правоможності використання діагнозу «неалкогольна жирова хвороба печінки». Запропонована нова номенклатурна назва цієї хвороби - «стеатозна хвороба печінки, асоційована з метаболічною дисфункцією». Про це в журналі «Hepatology» цього року наголошують у своєму консенсусному звіті 236 експертів з 54 країн. Маю причини вважати, що Ваша робота стає нібито 237-м голосом у даному контексті. На Вашу думку як представника теоретичної медицини, чи можна автоматично знімати діагноз НАЖХБ у хворого, який помірно вживає алкоголь або навіть має клінічно підтверджену алкогольну залежність?

10. Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.

За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації Галаган Юлії Василівни, з застосуванням програми «StrikePlagiarism.com», не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації даних. Подані до захисту наукові досягнення є власним напрацюванням аспірантки, текст дисертації є оригінальним. Виявлені тільки окремі співпадіння з власними публікаціями, термінологією, посиланнями на літературу та загальноживаними фразами. Таким чином, фактів порушень академічної доброчесності не виявлено.

11. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

На підставі проведеного аналізу вважаю, що дисертація Галаган Юлії Василівни на тему: «Структурні зміни печінки щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії (експериментальне дослідження)» є самостійною, завершеною науковою працею, в якій отримані і обґрунтовані нові результати, які у сукупності вирішують важливу для медицини науково-практичну задачу встановлення змін структури печінки щурів різного віку, що поглиблюються на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії.

Отримані результати досліджень та зроблені на їх основі узагальнення

висновки мають важливе наукове значення.

За актуальністю теми, обсягом та науковим рівнем виконаного дослідження й отриманих результатів, новизною отриманих результатів, їх теоретичним та практичним значенням, достовірністю висновків і положень та оформленням дисертаційна робота на тему: «Структурні зміни печінки щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії (експериментальне дослідження)» повністю відповідає вимогам щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії, відповідно до 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 №44 від 12 січня 2022 року та наказу МОН України №40 від 12.01.2017 року. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор Галаган Юлія Василівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент:

професор ЗВО кафедри медичної біології,
фармакогнозії, ботаніки та гістології
Дніпровського державного
медичного університету,
д. мед. н., професор



Ігор ТВЕРДОХЛІБ



*Ученый секретар,
к.б.и.н., доцент
С.ЕГОРОВА*

