

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу
Яровенко Людмили Олександрівни на тему “Вікові особливості ушкодження та регенерації печінки у щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, шляхи корекції виявлених порушень”, подану до офіційного захисту в спеціалізовану вчену раду Д 58.601.04 Державного вищого навчального закладу "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського" на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія**

Актуальність теми. Дисертаційна робота Яровенко Людмили Олександрівни присвячена проблемі алкоголізму - одній із актуальних проблем сучасної науки. Таке явище обумовлено тим, що вживання алкоголю зростає в усьому світі і в тому числі в Україні. За даними ВООЗ близько 2 млрд людей на Земній кулі вживають алкогольні напої та 76,3 млн мають захворювання, які пов'язані із зловживанням алкоголю. Найбільшого негативного впливу при зловживанні алкоголем припадає на печінку, оскільки саме тут відбувається біотрансформація етанолу. Виходячи із вищенаведеного, дослідження функціонального стану печінки, а саме біохімічні показники, клітинно-ядерні механізми ушкодження і регенерації печінки при хронічній алкогольній інтоксикації у щурів різного віку у порівнянні, є однією з фундаментальних основ корекції можливих ускладнень. Відомо, що універсальним механізмом ушкодження клітин при хронічній токсичній дії етанолу є дисбаланс прооксидантно-антиоксидантної системи, що супроводжується розвитком оксидативного стресу, однак біохімічні та клітинно-ядерні особливості вікових змін за експериментального хронічного алкогольного ураження печінки у щурів та за їх корекції кверцетином та глутаргіном вивчені недостатньо. Крім того, актуальним є дослідження антиоксидантної та мембранопротекторної дії кверцетину і глутаргіну та їх вплив на морфофункціональний стан печінки у тварин різного віку за експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації.

Отже, дослідження є актуальним, має теоретичну цінність і практичну спрямованість.

З цих позицій дисертаційна робота Яровенко Л.О. є актуальною, своєчасною і важливою для формування цілісної уяви про вікові особливості

ушкодження та регенерації тканини печінки на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та шляхи корекції виявлених порушень у статевонезрілих, статевозрілих та старих тварин.

Дисертаційна робота Яровенко Л.О. є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова на тему: «Вікові особливості патогенезу гострої і хронічної патології внутрішніх органів. Патогенетичні підходи до лікування» (номер державної реєстрації 0111U008679), затвердженої Президією НАН України. Здобувач є співвиконавцем даної науково-дослідної роботи.

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна, повнота їх викладу в опублікованих працях. Дослідження виконано на високому науково-методичному рівні. Під час його здійснення отримано науково обґрунтовані нові теоретичні результати, які в сукупності допомагають вирішити актуальну наукову задачу – з'ясування вікових особливостей ушкодження та регенерації тканини печінки на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, а також експериментально обґрунтовано ефективність використання кверцетину та глутаргіну для корекції виявлених порушень у статевонезрілих, статевозрілих та старих тварин.

Сформульовані завдання дослідження дозволяють реалізувати поставлену мету. Дисертантом згідно існуючих вимог вибрано предмет і об'єкт дослідження. Яровенко Л.О. ретельно проведено пошук літератури з досліджуваних питань, зареферовано 252 джерела інформації, з яких 129 – латиницею.

Сформульовані дисертантом наукові положення і висновки базуються на достатній кількості проведеного комплексного експериментального дослідження, а саме на 144 нелінійних щурах-самках різного віку, які були поділені на 3 вікових категорії, кожна з яких включала 4 дослідні групи: 1) контрольні тварини; 2) тварини, яким моделювали хронічне алкогольне ураження печінки; 3) тварини з хронічним алкогольним ураженням печінки та кверцетином;

4) тварини з хронічним алкогольним ураженням печінки та глутаргіном. Введення етанолу і препаратів проводили протягом 12 тижнів.

Використані методики є адекватними щодо поставлених завдань і відображають сучасний науково-методичний рівень досліджень. Це дозволило автору отримати вірогідні результати, дійти обґрунтованих висновків. Здобувачем залучені інформативні біохімічні, імуноферментні, цитофлуориметричні, морфологічні, морфометричні та математико-статистичні методи дослідження. Статистична обробка даних проводилась із використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних.

У висновках викладено найбільш важливі наукові результати, одержані в дисертаційній роботі, значення їх для науки й практики; наголошено на якісних та кількісних показниках здобутих результатів, обґрунтовується достовірність результатів. Узагальнюючі дані відповідають отриманому фактичному матеріалу. Використані методи дослідження дають підстави стверджувати про достовірність отриманих наукових положень, висновків.

Основні положення дисертації повністю висвітлені у фахових виданнях. За темою дисертації автором опубліковано 19 наукових праць: 10 статей, із яких 4 – у наукових фахових виданнях України, 1 – у періодичному іноземному виданні, 5 – у наукових виданнях України, 8 тез доповідей – у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конгресів, конференцій та з'їздів, 1 деклараційний патент України на корисну модель.

3. Теоретичне та практичне значення результатів дослідження.

Аналіз дисертаційної роботи показав наявність ряду нових даних щодо змін характерних біохімічних показників функціонального стану печінки на тлі хронічної алкогольної інтоксикації у щурів різного віку. У всіх вікових категоріях тварин із хронічним алкогольним ураженням печінки виявлено кількісне збільшення маркерів синдрому цитолізу, холестазу, дисфункцію печінки, причому більш виражено у статевонезрілих та старих щурів порівняно із статевозрілими.

Автором дисертації отримано принципово нову інформацію та уперше з'ясовано, що дія кверцетину та глутаргіну на функціональний стан печінки щурів реалізується в залежності від віку тварин при хронічній алкогольній інтоксикації. Глутаргін суттєво пригнічував біохімічні показники синдромів холестазу та цитолізу (достовірно зменшувалась активність трансаміназ та вміст білірубину), кверцетин – мезенхімального запалення з відновленням протеїнсинтезуючої функції печінки у всіх тварин незалежно від віку.

За результатами комплексного дослідження Яровенко Л.О. встановлено, що рівень IGF-1 у сироватці крові всіх вікових категорій щурів із хронічним алкогольним ушкодженням печінки достовірно зменшувався порівняно із контролем. Введення кверцетину статевозрілим тваринам призводило до зниження рівня IGF-1, застосування глутаргіну навпаки – до достовірного збільшення його порівняно із контролем відповідного віку, що свідчить про активацію процесів регенерації тканини печінки.

Дисертантом уперше в експерименті досліджені механізми ушкодження та регенерації ядер клітин печінки на основі змін фаз клітинного циклу, фрагментації та плоїдності ядерної ДНК гепатоцитів у статевонезрілих, статевозрілих та старих самок щурів. Установлено, що хронічна інтоксикація етанолом може призводити до апоптичної загибелі гепатоцитів (посилена фрагментація ДНК) унаслідок пригнічення біосинтетичних процесів у ядрах гепатоцитів із переважанням процесів поліплоїдизації. Кверцетин і глутаргін сприяють регенерації печінки шляхом проліферації, про що свідчить достовірне збільшення диплоїдних ядер клітин печінки.

Автором продемонстровано та уточнено вікові особливості морфофункціонального стану печінки та виявлено структурні зміни паренхіми у щурів різних вікових категорій на тлі хронічної дії етанолу. Показана здатність глутаргіну нормалізувати морфофункціональний стан печінки, сприяючи репарації клітин печінки.

Дисертантом отримані нові дані, щодо взаємозв'язку характерних біохімічних показників функціонального стану печінки та рівня IGF-1 сироватки

крові із фазами клітинного циклу, фрагментацією ДНК, плоїдністю ядер клітин печінки, морфометричними показниками у щурів різного віку на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та при введенні кверцетину та глутаргіну, який найбільш виражений у статевозрілих щурів.

Таким чином, дисертаційна робота Яровенко Л.О. насичена достатньою кількістю нових даних, сукупність яких характеризує її суттєву новизну.

Матеріали дисертаційної роботи та отримані результати дослідження доповнюють існуючі дані щодо біохімічних механізмів алкогольного ушкодження і регенерації печінки щурів різного віку та поглиблюють відомості щодо біохімічних механізмів, порушення яких призводить до дисфункції печінки за хронічної алкогольної інтоксикації у залежності від віку. Одержані результати свідчать про протекторну дію кверцетину та глутаргіну за умов хронічного алкогольного ушкодження печінки, що може знайти застосування під час лікування хронічного алкоголізму. Запропоновано спосіб лікування патогенно індукованого апоптозу гепатоцитів при алкогольних ушкодженнях печінки (Патент № 99811 від 25.06.2015 р., Україна).

Отримані результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-навчальний процес кафедр біологічної та загальної хімії, патофізіології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України, кафедри медичної хімії Одеського національного медичного університету, кафедри медичної біохімії ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”, кафедри біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України”.

4. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому та ідентичності змісту автореферату й основних положень дисертації.

Дисертаційна робота Л.О. Яровенко побудована згідно загальноприйнятих вимог, вона містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, чотири розділи власних досліджень, аналіз і узагальнення

результатів дослідження, висновки, список літератури та додатки. Результати даної роботи отримані за допомогою сучасних біохімічних, імунофлуоресцентних, цитофлуориметричних, морфологічних, морфометричних та статистичних методів дослідження.

Дисертація викладена на 158 сторінках друкованого тексту (основний обсяг становить 120 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та 8 додатків. Робота містить 6 таблиць та проілюстрована 27 рисунками, які повною мірою відображають об'єм проведених досліджень. Дисертацію та автореферат оформлено відповідно до державного стандарту. Дисертація написана діловою українською мовою, з адекватним і доречним застосуванням наукової термінології.

При розгляді дисертації необхідно відмітити наступні найсуттєвіші моменти.

Вступ (7 стор.) структурований згідно встановлених вимог, усі його підрозділи викладені чітко, лаконічно. Автор коротко висвітлює стан проблеми, формулює мету і завдання дослідження, обґрунтовує необхідність його проведення. Як мета, так і завдання дослідження сформульовані коректно, поставлені задачі логічно випливають з мети дисертаційної роботи. У підрозділі «Апробація результатів роботи» наводиться перелік наукових форумів різного рівня, на яких оприлюднені і обговорені результати дисертаційної роботи.

Розділ 1 (огляд літератури), викладений на 23 сторінках, де відображаються основні напрямки досліджень із проблеми, що вивчається. У даному розділі висвітлено сучасні уявлення про особливості ушкодження та регенерації тканини печінки при хронічній алкогольній інтоксикації, а також методи гепатопротекції. Цей розділ написано з глибоким розумінням теоретичних та практичних аспектів проблеми, широкою ознайомленістю з наявними вітчизняним та зарубіжними науковими публікаціями, вказує на добру обізнаність автора у стані проблеми у світі і в Україні.

Автор не тільки констатує ту чи іншу позицію авторів, але й обґрунтовано викладає вузькі місця, неузгодженість низки положень та недостатньо вивчені питання. Посилання на літературні джерела здебільшого відносяться до останнього десятиріччя.

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» написано на 14 сторінках ґрунтовно, з детальним викладенням використаних методик. Слід підкреслити, що дисертантка використала широкий спектр сучасних методів дослідження – біохімічні, імуноферментні, цитофлуориметричні, морфологічні та математико-статистичні. Матеріали та методи досліджень є досить змістовними. Даний розділ містить інформацію щодо моделювання хронічного алкогольного ушкодження печінки, розподілу експериментальних тварин на вікові категорії і дослідні групи, а також детальний опис всіх досліджень проведених автором, в процесі виконання наукової роботи. Потрібно відзначити, що дисертантом проведений достатній об'єм досліджень та отримана наукова інформація, що безсумнівно достовірна.

Результатам власних досліджень присвячені інші чотири розділи дисертації. Кожен з них розкриває поставлені задачі і закінчується стислими проміжними висновками та переліком друкованих праць, в яких висвітлені результати досліджень. Усі розділи дисертації оприлюднені в статтях, тезах, доповідях на наукових конференціях та форумах. В останньому, 7 розділі, викладений аналіз та узагальнення отриманих результатів дослідження.

Розділ 3 власних досліджень на тему «Характерні біохімічні показники ушкодження печінки у самок щурів різного віку за хронічної алкогольної інтоксикації та корекції», (19 стор.) містить опис результатів власних досліджень, які вказують на функціональний стан печінки самок щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації та при введенні кверцетину і глутаргіну на біохімічні показники. Розділ ілюстровано 13 рисунками та 3-ма таблицями, які презентують отримані результати та не дублюють один одного.

Розділ 4 власних досліджень «Роль інсуліноподібного фактору росту-1 в механізмах регенерації тканини печінки у щурів різного віку за хронічної алкогольної інтоксикації та за корекції», (8 стор.) присвячений дослідженню рівню

інсуліноподібного фактору росту-1 у сироватці крові щурів різних вікових категорій при хронічному алкогольному ушкодженні печінки та на тлі введення кверцетину і глутаргіну. Цифровий матеріал представлено у 2-ма рисунками, які не дублюють текст та мають власне інформаційне значення.

У 5 розділі власних досліджень «Фази клітинного циклу, фрагментація та плоїдність ДНК ядер гепатоцитів у щурів різного віку при хронічному алкогольному ушкодженні печінки та корекції» (20 стор.) наведені обґрунтовані сучасні дані щодо вікових особливостей зміни фаз клітинного циклу, фрагментації ядерної ДНК та плоїдності ДНК ядер гепатоцитів у щурів із хронічним алкогольним ушкодженням печінки та за умов корекції кверцетином і глутаргіном, а також можливі кореляційні зв'язки між перерахованими показниками. Розділ проілюстровано 7-ма рисунками, цифрові результати досліджень представлено у 1 таблиці.

У 6 розділі власних досліджень на тему «Оцінка морфологічних та морфометричних параметрів тканини печінки у щурів в залежності від їх віку, при хронічній алкогольній інтоксикації, вплив кверцетину та глутаргіну на процеси регенерації тканини печінки» (11 стор.) наведена обґрунтована достовірна інформація про особливості структурних змін печінки статевонезрілих, статевозрілих та старих щурів на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та корекції кверцетином і глутаргіном. Рисунки (28-м мікрофотографій гістологічних зрізів печінки) та 3 таблиці до даного розділу представлені в Додатках, отримані дані повністю відображають весь обсяг проведених гістологічних і морфометричних досліджень.

Розділ дисертації 7 “Аналіз і узагальнення результатів дослідження” (18 стор.) оформлено відповідно сучасним науковим тенденціям, де здобувач логічно підводить підсумок проведених досліджень, співставляючи їх із сучасними даними літератури. Об'єктивно аналізуються і критично оцінюються отримані результати з відповідними даними інших науковців. Позитивним є те, що дисертантка виклала даний розділ чітко і логічно, в якому легко простежується основний зміст і завдання дисертаційного дослідження, отримані власні

результати відповідно до кожного завдання. З аналізу результатів випливають чіткі та обґрунтовані узагальнення, які лягли в основу сформульованих висновків дисертації.

Висновки є достовірними, обґрунтованими, логічними, відповідають поставленим завданням, що забезпечується достатньою кількістю проведених експериментальних досліджень, застосуванням сучасних високоінформативних методів дослідження, адекватною статистичною обробкою отриманих результатів із використанням сучасного програмного забезпечення, аналізом достатньої кількості літературних джерел.

5. Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці.

Отримані дисертантом результати при виконанні дисертаційної роботи на тему “Вікові особливості ушкодження та регенерації печінки у щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, шляхи корекції виявлених порушень” суттєво розширюють сучасні уявлення про вікові особливості ушкодження та регенерації тканини печінки на тлі хронічної алкогольної інтоксикації, а також експериментально обґрунтовують ефективність використання кверцетину та глутаргіну для корекції виявлених порушень у статевонезрілих, статевозрілих та старих тварин. Отримані автором дані впроваджено в науково-навчальний процес вищих навчальних закладів країни при читанні лекцій та проведенні практичних занять.

6. Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації.

При рецензуванні даної роботи виникли наступні зауваження, у зв'язку із чим вважаю за необхідне привернути увагу здобувача на деякі міркування щодо її змісту та оформлення.

1. На нашу думку, недоцільним є виокремлення розділу 6 «Оцінка морфологічних та морфометричних параметрів тканини печінки у щурів, в залежності від їх віку, при хронічній алкогольній інтоксикації, вплив кверцетину та глутаргіну на процеси регенерації тканини печінки», оскільки частина даних

щодо морфологічного підтвердження хронічного алкогольного ураження печінки стосується розділу 2, а гістологічну картину впливу кверцетину та глутаргіну на процеси регенерації тканини печінки варто було б подати у розділі 3.

2. У розділі 2 детально описано методику імуноферментного визначення рівня інсуліноподібного фактору росту-1 (IGF-1) у сироватці крові, яка займає 18 рядків тексту, проте не дає жодної потрібної інформації.

3. У тексті зустрічаються некоректно вжиті фрази, наприклад, відсоток гепатоцитів (стор. 83), проте Ви не виділяли гепатоцити, а лише їх ядра; зустрічаються поодинокі русизми та граматичні неточності.

Вказані зауваження не є принциповими щодо суті роботи, вони переважно мають технічний характер та не зменшують наукової цінності дисертації в цілому.

Хотілося б в порядку дискусії почути відповідь дисертанта на окремі запитання:

1. Чи встановлено Вами вплив вікових чинників на розвиток алкогольного ураження печінки і як Ви це поясните?
2. З якою метою Ви проводили морфологічні дослідження і які ознаки гепатиту виявлено?

7. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Яровенко Людмили Олександрівни на тему “ Вікові особливості ушкодження та регенерації печінки у щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, шляхи корекції виявлених порушень” є самостійною завершеною науково-дослідною роботою, присвячена вирішенню актуальної задачі – з’ясуванню вікових особливостей ушкодження та репаративної регенерації тканини печінки на тлі хронічної алкогольної інтоксикації та шляхи корекції виявлених порушень у статевонезрілих, статевозрілих та старих тварин.

За актуальністю, рівнем проведених досліджень, науковою новизною отриманих результатів, теоретичним та практичним значенням, об'єктивністю та обґрунтованістю висновків, а також рівнем оприлюднення результатів дослідження дисертаційна робота відповідає вимогам п. 11 "Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння звання старшого наукового співробітника", затвердженою постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор Яровенко Людмила Олександрівна – заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Офіційний опонент

доктор медичних наук, доцент,
завідувач кафедри функціональної діагностики
та клінічної патофізіології,
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний
університет імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України»
03.06.2016 р.



М. І. Марущак



Особистий підпис

заміряю

Помічник ректора з кадрових питань
Тернопільського медуніверситету



Згідно надійшов у спеціалізований вчений
раду к 58.601.04 14.06.2016 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої
ради к 58.601.04



доц. Яровенко Л.О.