

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора, завідувача
кафедри патологічної анатомії з секційним курсом
Одеського національного медичного університету

Ситнікової Варвари Олександрівни

на дисертаційну роботу Кихтенко Олени Валеріївни

«Патологічна анатомія гемато-енцефалічного бар'єру при гіпоксичному стресі в перинатальному періоді», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Актуальність обраної теми.

Актуальність теми дисертації зумовлена у першу чергу поширюваністю патології, що досліджувалась. Гіпоксичне ураження головного мозку, що призводить до гіпоксично-ішемічної енцефалопатії є найчастішим патологічним станом у перинатальному періоді. Причиною розвитку гіпоксично-ішемічної енцефалопатії є анте- або інтранатальна гіпоксія, частота виникнення якої за даними різних авторів коливається в межах 40-80%. Більшість даних з морфології постаноксичного мозку стосуються переважно пошкодження нейронів. У той же час, питання патоморфології компонентів гемато-енцефалічного бар'єру, після перинатального гіпоксичного пошкодження, залишаються маловивченими.

Дисертація присвячена вивченню патоморфологічних змін компонентів гемато-енцефалічного бар'єру плодів та новонароджених, що піддавались впливові гіпоксії різноманітного генезу, та на різноманітних термінах перинатального періоду. При цьому автор розглядає гіпоксію як стресовий стан та, відповідно, патологоанатомічні зміни у гемато-енцефалічному бар'єрі зіставляє із рівнем морфо-функціональної активності сигнальних стрес-

організуючих та стрес-лімітуючих нейроендокринних структур, а саме епіфізу мозку та адренкортикотропоцитів гіпофізу. Виявлені в ході дослідження зміни в компонентах гемато-енцефалічного бар'єра при перинатальному гіпоксичному ушкодженні та зв'язок цих змін із морфо-функціональним станом епіфіза мозку та адренкортикотропоцитів гіпофіза можливо використовувати для створення теоретичного обґрунтування для розробки нових методів лікування перинатальної гіпоксично-ішемічної енцефалопатії та мінімізації її наслідків. Отже тему дисертації слід визнати актуальною для сучасної медицини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота Кихтенко О.В. є частиною планової наукової теми кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету «Патологічна анатомія окремих систем плода і новонародженого від матерів з ускладненою вагітністю» (номер державної реєстрації 0105U002760), що входить в координаційний план пріоритетних напрямків, затверджений Міністерством охорони здоров'я України.

У межах цієї теми автором вивчено морфо-функціональні особливості гемато-енцефалічного бар'єра плодів, новонароджених та дітей першого місяця життя при гіпоксичному перинатальному стресі.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій.

Дисертаційне дослідження виконане на достатньому за обсягом матеріалі. Дисертантом вивчено архівний матеріал: 834 випадки протоколів розтинів, історій пологів та історій хворіб плодів та новонароджених, що загинули в наслідок перинатальної гіпоксії та аутопсію яких, було проведено у відділенні Харківської обласної клінічної лікарні за періоди від 1996 до 2006 років включно; досліджено 94 випадки аутопсії антенатально загиблих плодів внаслідок дії перинатальної гіпоксії та 89 випадків загибелі

новонароджених протягом першого місяця постнатального онтогенезу від тяжкої летальної гіпоксично-ішемічної енцефалопатії. Робота містить також велику експериментальну частину, що проведена на щурах з моделюванням гіпоксично-ішемічної енцефалопатії різного ступеня важкості. Застосований комплекс досліджень включав сучасні морфологічні методи. Переконливі результати отримані завдяки застосуванню гістохімічних, імуногістохімічних досліджень, електронної мікроскопії. Результати статистично оброблені і добре представлені. Тому отримані висновки дисертації є достовірними та повністю відповідають зазначеним завданням дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів.

Проведене комплексне морфологічне дослідження змін компонентів гемато-енцефалічного бар'єру у плодів та новонароджених, що перенесли перинатальний гіпоксичний стрес на різноманітних етапах антенатального, інтранатального та раннього постнатального онтогенезу, дозволило встановити закономірності формування та патологоанатомічні особливості ушкодження основних компонентів гемато-енцефалічного бар'єру. Виявлено морфологічні прояви ушкодження та динаміку змін фаз адаптації, компенсації та декомпенсації в структурах, що формують гемато-енцефалічний бар'єр та які корелюють з морфо-функціональним станом епіфізу мозку і адренкортикотропоцитами гіпофізу.

Виявлено нові можливі патогенетичні аспекти механізмів розвитку порушення функцій нервової діяльності в індивідуумів, що перенесли ушкоджуючий вплив гіпоксії в перинатальному періоді. Виявлені кореляційні зв'язки між показниками ушкодження компонентів гемато-енцефалічного бар'єру та морфофункціональним станом епіфізу мозку та адренкортикотропоцитами гіпофізу дозволяють зробити висновок, що дані ендокринні структури беруть участь у формуванні та становленні адаптаційних механізмів і їх виснаження сприяє летальному результату.

Теоретичне значення отриманих результатів.

Результати даного дослідження дозволяють створити теоретичну базу для розроблення методів гормональної замісної терапії у новонароджених, що піддавались впливу перинатального гіпоксичного стресу на різних етапах постнатального онтогенезу, що, у свою чергу, підвищить ефективність лікувальних та реабілітаційних заходів у даного контингенту хворих та дозволить у їх випадку максимально зберегти структурні субодиниці центральної нервової системи та, відповідно, функціональні ресурси вищої нервової діяльності.

Практичне значення результатів дослідження.

Дане дослідження дозволило сформулювати концепцію розвитку перинатальних гіпоксичних уражень як зриву компенсаторних механізмів в головному мозку, які мають гормональну регуляцію, що показано на прикладі епіфізу мозку й адренкортикотропоцитів, та надати теоретичне обґрунтування для розроблення нових можливих методів профілактики, лікування та реабілітації новонароджених з перинатальним гіпоксичним ураженням на основі гормональної замісної терапії.

Пріоритетність досліджень підтверджена 6-ма отриманими корисними моделями: «Спосіб морфологічної верифікації апоптозу», «Спосіб прогнозування маси тіла плода або новонародженого», «Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах», «Спосіб забарвлювання нервових волокон гістологічного препарату», «Спосіб моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах», «Спосіб визначення маси серця плодів та новонароджених із внутрішньоутробною затримкою розвитку».

Результати проведених досліджень впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, а також у навчальний та науковий процеси кафедри

госпітальної педіатрії та неонатології №1 Харківського національного медичного університету, кафедри патоморфології з курсами судової медицини, гістології, цитології та ембріології медичного факультету Сумського державного університету, кафедри патологічної анатомії, судової медицини та медичного законодавства Луганського державного медичного університету; в наукову роботу в центральній науково-дослідній лабораторії Донецького національного медичного університету; в роботу патологоанатомічних відділень КЗОЗ «Харківський міський перинатальний центр», КЗОЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня», КЗОЗ «Обласна клінічна лікарня – Центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф», КЗОЗ «Харківська міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної допомоги ім. проф. О.І. Мещанінова», КЗОЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня», КЗОЗ «Харківська міська багатопрофільна лікарня №18», КЗОЗ «Ізюмська центральна міська лікарня», Вінницького обласного патологоанатомічного бюро та Тернопільського обласного патологоанатомічного бюро.

Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

Матеріали дисертаційної роботи опубліковані у 43 наукових працях, зокрема, у 23 статтях (у тому числі 12 одноосібних), з яких 20 статей представлені в наукових фахових виданнях України (10 – у журналах, що входять до міжнародних наукометричних баз РІНЦ, Google Scholar), 2 статті – у закордонних наукових виданнях, обидві індексуються у наукометричній базі РІНЦ, 14 тез опубліковано у матеріалах Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій, отримано 6 деклараційних патентів на корисну модель. В авторефераті лаконічно викладені матеріали дисертаційної роботи, зміст автореферату відповідає змісту дисертації і повністю відображує усі основні положення, висновки та практичні рекомендації.

Структура і зміст дисертації.

Дисертація побудована за загальноприйнятою схемою, викладена українською мовою, містить анотацію, вступ, перелік умовних позначень, основну частину, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Дисертація викладена на 440 сторінках машинописного тексту, вона складається зі вступу, огляду літератури, 9 розділів матеріалів власних досліджень, обговорення, висновків, практичних рекомендацій, переліку використаних джерел літератури, додатки. Роботу було ілюстровано за допомогою 103 таблиць та 104 рисунків (обсягом 51 сторінка), в тому числі за допомогою 94 мікрофотографій.

Анотація дисертації подана двома мовами, зі списком публікацій здобувача, що віддзеркалюють основні результати дослідження та засвідчують апробацію отриманих матеріалів. Ключові слова відповідають основному змісту наукової праці та відображають тематику дослідження.

У "Вступі", дисертант обґрунтовує актуальність теми дисертації, чітко формулює мету і задачі дослідження, наукову новизну і практичну значимість роботи, висвітлює сутності наукової проблеми.

Розділ 1 "Огляд літератури" складається з трьох підрозділів, які викладені на 23 сторінках машинописного тексту, що не перевищує 20 % основного тексту. В даному розділі автор дає повну характеристику стану проблеми на сьогоднішній день та перспективи її розвитку. Послідовно аналізує літературні дані, починаючи з питань нормальної ембріології, гістології, анатомії та фізіології гемато-енцефалічного бар'єру головного мозку та ролі нейроендокринної та ендокринної систем у регуляції гомеостазу головного мозку. Також аналізуються літературні дані, що стосуються питань патогенезу і взаємовідносин нейроендокринної і ендокринної систем та гемато-енцефалічного бар'єру у випадку гіпоксичних станів.

В розділі "Матеріал та методи досліджень" всі використані автором методи дослідження є сучасними, вони уможливають цілком об'єктивну

оцінку виявлених патологоанатомічних змін, як в компонентах гемато-енцефалічного бар'єру, так і в епіфізі мозку та адrenокортикотропоцитах гіпофіза. Про високий рівень методичної підготовки автора свідчать застосовані в роботі імуногістохімічні маркери.

В розділі 3 автор наводить та аналізує клінічні дані, отримані в наслідок вивчення архівного матеріалу (протоколи розтинів загиблих плодів та новонароджених від впливу перинатальної гіпоксії, історії їх пологів та історії хворіб їх матерів). В підрозділі 3.1 аналізуються та узагальнюються клінічні дані про плодів та новонароджених, що загинули внаслідок гострої анте-, інтра-, та постнатальної асфіксії, в підрозділі 3.2 – клінічні дані про плодів та новонароджених, що загинули внаслідок гострої анте-, інтра-, та постнатальної асфіксії, та були виношені в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.

Розділ 4 присвячено вивченню патологоанатомічних змін в компонентах гемато-енцефалічного бар'єру, в епіфізі мозку та адrenокортикотропоцитах гіпофіза у плодів, що загинули внаслідок анте-, інтранатальної асфіксії та були виношені в умовах фізіологічного перебігу вагітності. В цьому розділі окрім важливих даних про патоморфологічні особливості гіпоксичного ушкодження структур, що вивчались, надаються цікаві дані про нормальний ембріо-фетогенез деяких компонентів гемато-енцефалічного бар'єру, що були отримані внаслідок проведеного автором дослідження.

В розділі 5 надаються дані про патоморфологічні зміни в компонентах гемато-енцефалічного бар'єру, в епіфізі мозку та адrenокортикотропоцитах гіпофіза у плодів, що загинули внаслідок анте-, інтранатальної асфіксії та були виношені в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії.

Далі автор наводить дані про вивчені особливості патоморфологічних змін, як в компонентах гемато-енцефалічного бар'єру, так і в досліджуваних ендокринних структурах у новонароджених, що загинули на ранніх етапах постнатального онтогенезу від гіпоксично-ішемічної енцефалопатії. При

цьому окремо було досліджено групу новонароджених, що були виношені в умовах фізіологічного перебігу вагітності (розділ 6), та групу новонароджених, що були виношені в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (розділ 7).

Розділ 8 присвячено експериментальному дослідженню, яке було проведено на щурятах та в якому була змодельована різноманітна по ступеню тяжкості перинатальна гіпоксія (легка та важка сублетальна). В цьому розділі наведені результати іммуногістохімічних досліджень з використанням достатнього спектру моноклональних антитіл, що були проведені на матеріалі, отриманому від експериментальних тварин.

В розділі 9 викладено дані про електронно-мікроскопічне дослідження компонентів гемато-енцефалічного бар'єру при дії перинатальної гіпоксії. При цьому досліджено, як матеріал аутопсій, так і матеріал, що отримали від експериментальних тварин.

В останньому розділі "Обговорення отриманих результатів" автор наводить основні положення роботи, які засвідчують реалізацію поставленої мети і задач дисертаційної роботи.

Робота закінчується 10 висновками та практичними рекомендаціями, які повністю відображають матеріали дисертації і ґрунтуються на отриманих автором фактах.

Зауваження та побажання до дисертації та автореферату щодо їх змісту й оформлення.

Оцінюючи дисертаційну роботу та автореферат Кихтенко О.В. в цілому позитивно, слід відмітити ряд недоліків:

- У розділі «Огляд літератури» при аналізі літературних даних, що стосуються питань патогенезу і взаємовідносин нейроендокринної і ендокринної систем та гемато-енцефалічного бар'єру у випадку гіпоксичних станів, автор наводить велику кількість даних по адренокортикотропоцитам гіпофіза. Однак по другій ендокринній залозі, яка досліджувалась в роботі як

маркер стресової реакції, а саме епіфізу мозку, наведено даних небагато. Дана нейроендокринна залоза дуже цікава сучасним дослідникам. У сучасній літературі є великий банк відомостей про епіфіз мозку, його функції, властивості його біологічно активних речовин, вплив їх на організм та ін. Бажано додати літературних даних в цей підрозділ і його розширити.

- У розділах 4 і 5, де викладені дані, отримані при дослідженні антенатально загиблих плодів, виношених в умовах фізіологічним перебігом вагітності, а також в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії, автор детально викладає дані макроскопічного дослідження головного мозку цих плодів. При цьому описує лептоменінгіальні крововиливи, їх локалізацію, підраховує питому вагу частоти крововиливів в даних досліджуваних групах. Метою роботи було дослідження компонентів гемато-енцефалічного бар'єру і на наш погляд настільки детальний аналіз частоти виникнення лептоменінгіальних крововиливів і їх локалізації - зайвий.

- У розділі «Обговорення отриманих результатів» бажано більше використовувати порівняння власних результатів з даними інших авторів.

- У тексті дисертації зустрічаються поодинокі стилістичні помилки.

- Окремі мікрофотографії (рис. 8.5, 8.6, 8.7, 8.19, 8.25) потребують підсилення контрастності для кращого візуального сприйняття.

- У підписах до деяких рисунків при вказівці збільшення – помилка (7.7, 8.28).

- У підпису до рисунка 8.27 хотілось би більшої інформативності.

Хотілось би також почути думку автора про наступне:

- Чим обумовлено введення в роботу великої експериментальної частини?
- Навіщо досліджувався 8-й фактор згортання крові і чому не досліджувалися в роботі інші фактори згортання?

- Чим на вашу думку обумовлена проліферація перицитів, яку ви виявляли у випадках винощування потомства в умовах хронічної внутрішньоутробної гіпоксії?

Питання стосуються складних дискусійних проблем, не впливають на загальний високий науковий рівень дисертації й не піддають сумніву результати, отримані автором.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці.

Виходячи з характеру роботи, доцільне використання її матеріалів у підготовці студентів-медиків як на теоретичних, так і на клінічних кафедрах, а також на курсах підвищення кваліфікації лікарів.

На основі даного дослідження було розроблено та запатентовано метод визначення ступеню тяжкості хронічної внутрішньоутробної гіпоксії шляхом оцінювання антропометричних параметрів плодів та новонароджених. Впровадження даного методу до практичної охорони здоров'я дозволить лікарям - неонатологам, педіатрам, патологоанатомам, на основі оцінки антропометричних параметрів плоду та новонародженого ретроспективно оцінювати ступінь тяжкості та тривалість впливу такого шкідливого фактору, як хронічна внутрішньоутробна гіпоксія.

В ході даної роботи також було розроблено та запатентовано метод оцінювання ступню виразності апоптозу на препаратах, забарвлених за Екнарсоном. Впровадження даного методу до роботи патологоанатомічних відділень дозволить у значній мірі скоротити як матеріальні, так і часові витрати, під час дослідження процесів масової клітинної загибелі у тканинах.

Було також розроблено та запатентовано новий метод кількісної оцінки вмісту різноманітних антигенів у біологічних тканинах при використанні імуногістохімічних методів дослідження із подальшою люмінесцентною мікроскопією. Впровадження даної методики до практичної роботи патологоанатомічних відділень дозволить вивчати точніші та об'єктивніші


дані про кількісний вміст тих або інших антигенів у тканинах біологічних зразків під час імуногістохімічного дослідження із використанням моноклональних антитіл та подальшою люмінесцентною мікроскопією.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Таким чином, вважаю, що дисертаційне дослідження О. В. Кихтенко самостійною, завершеною науково-дослідницькою роботою, яка містить нові науково обґрунтовані результати, що мають істотне теоретичне та практичне значення для медицини, в сукупності вирішують важливу наукову проблему. Робота відповідає встановленим вимогам пункту 10 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року) щодо докторських дисертацій, а сам здобувач заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю “14.03.02 – патологічна анатомія”.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Одеського національного медичного університету, доктор медичних наук, професор



В.О. Ситнікова

Гідний В.О. Ситніковій
Засвідчує: В.С. Васильєв
О.М.М.М., професор



В.С. Васильєв